

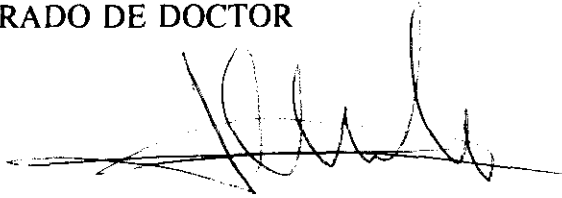


CATEDRA DE FARMACOLOGIA
FACULTAD DE VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

**COMPORTAMIENTO FARMACOCINETICO
DE LA NORFLOXACINA
EN OVIDOS DE DIFERENTES EDADES**

**Fernando González Gómez
Madrid, 1994**

TRABAJO QUE PRESENTA EL LICENCIADO
D. FERNANDO GONZALEZ GOMEZ PARA ASPIRAR
AL GRADO DE DOCTOR

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Fernando González Gómez', with a long horizontal stroke extending to the left.

Fdo.: Fernando González Gómez.

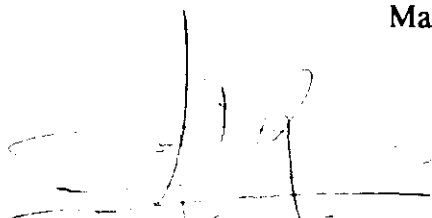
Madrid, Noviembre 1994.

D.MANUEL IGNACIO SAN ANDRES LARREA, Profesor Titular de Universidad de Farmacología y Terapéutica Veterinarias y Dña. CASILDA RODRIGUEZ FERNANDEZ, Profesora Titular de Escuelas Universitarias de Farmacología y Terapéutica Veterinarias, ambos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICAN:

Que la memoria presentada por el Licenciado en Veterinaria D. Fernando González Gómez, con el título "Comportamiento farmacocinético de la norfloxacin en óvidos de diferentes edades", ha sido realizada bajo nuestra dirección, en los laboratorios de la Cátedra de Farmacología.

Madrid, Noviembre de 1994.



Fdo: C. Rodríguez Fernández



Fdo: M.I. San Andrés Larrea

Quiero en principio dar las gracias a Manolo y Casilda, directores de este trabajo, sin su guía, su ejemplo y su ayuda, tanto personal como científica, no hubiera sido posible su realización.

Al Prof. D. Emilio Ballesteros Director de nuestro Departamento que me inició en este campo, por sus consejos, su apoyo incondicional y por poner a mi disposición todo lo necesario para su realización.

A Javier, el mejor amigo, éste trabajo es también suyo.

A los componentes de la Cátedra de Farmacología especialmente a Mara, Mariló, Teresa, Enma, Jose Maria, Vicky Mariano, Mari Angeles y Mercedes por su amistad y su ayuda en la realización y a D. Rafael, Luisi, Rafa y Mariví por su disponibilidad en todo momento.

A la Cátedra de Cirugía de la Facultad de Veterinaria de Madrid y especialmente a los Drs. Fidel San Roman, Mercedes Sanchez, Paloma Garcia, Dieter Brandau y Julio Olias, por la realización de la parte quirúrgica de este trabajo.

A los laboratorios Hipra y especialmente a Jaime Vendrell por cedernos los fármacos utilizados.

A mis compañeros y alumnos de la Facultad y de la Coral Veterinaria por su apoyo constante.

A Eduardo, Eulogio, Jose, Juanito y Manolo por su ayuda en el transporte, cuidado y manejo de los animales.

A Tania, Pilar, Jose, Antonio, Itziar y Fernando por estar a mi lado.

A mi familia sobre todo.

Gracias a todos.

P.S. A Clea, Speedy y Eternelle por el tiempo que les ha robado la realización de este trabajo y por lo que sin saberlo me han ayudado.

A mi familia.

A mis amigos.

II.2.3.- Distribución	82
II.2.4.- Eliminación	87
II.2.5.- Farmacocinética en situaciones especiales	92
II.2.6.- Farmacocinética en animales	94
II.2.6.1.- Aves	94
II.2.6.2.- Peces	99
II.2.6.3.- Mamíferos no rumiantes	101
II.2.7.- Particularidades farmacocinéticas de los rumiantes	108
II.2.7.1.- Absorción de fármacos a través del epitelio retículo-ruminal	111
II.2.8.- Farmacocinética de quinolonas en rumiantes	120
 III.- MATERIAL Y METODOS	 130
III.1.-MATERIAL	131
III.1.1.- Material biológico	131
III.1.2.- Fármacos	131
III.1.3.- Cánulas ruminales	134
III.1.4.- Reactivos	136
III.1.5.- Material fungible	136
III.1.6.- Instrumentación	137
III.2.- METODOS	138
III.2.1.- Adaptación y preparación de los animales	138
III.2.2.- Colocación quirúrgica de las cánulas ruminales	139
III.2.3.- Administración y toma de muestras	141
III.2.3.1.- Obtención de las muestras	141
III.2.3.2.- Administración intravenosa en ovejas y corderos	141
III.2.3.3.- Administración oral en ovejas y corderos	142
III.2.3.4.- Administración intramuscular en ovejas	143
III.2.4.- Preparación de las muestras plasmáticas y ruminales	143
III.2.5.- Extracción de la norfloxacin y metodología analítica	144
III.2.5.1.- Extracción	144
III.2.5.2.- Detección	145
III.2.5.3.- Linealidad y reproducibilidad	145
III.2.5.4.- Recuperabilidad	146
III.2.5.5.- Límite de detección	147
III.2.6.- Cálculo de los coeficientes de distribución rumen/plasma	147
III.2.7.- Tratamiento cinético	149
III.2.8.- Metodología estadística	151

IV.- RESULTADOS	152
IV.1.- Metodología analítica	153
IV.1.1.- Linealidad	155
IV.1.2.- Rectas de calibrado	160
IV.1.3.- Reproducibilidad del método analítico	165
IV.1.4.- Recuperabilidad	170
IV.2.- Coeficientes de ionización y distribución rumen/plasma	176
IV.3.- Administración intravenosa en ovejas	179
IV.3.1.- Concentraciones ruminales tras la administración intravenosa en ovejas	188
IV.4.- Administración intramuscular en ovejas	192
IV.4.1.- Concentraciones ruminales tras la administración intramuscular en ovejas	198
IV.5.- Administración oral en ovejas	202
IV.5.1.- Concentraciones ruminales tras la administración oral en ovejas	208
IV.6.- Administración intravenosa en corderos	212
IV.7.- Administración oral en corderos	220
V.- DISCUSION	225
V.1.- Discusión del método	226
V.1.1.- Metodología analítica	226
V.1.2.- Canulación ruminal	230
V.1.3.- Administración de la norfloxacin	232
V.1.4.- Tratamiento farmacocinético y estadístico	233
V.2.- Discusión de los resultados	235
V.2.1.- Administración intravenosa a ovejas	235
V.2.2.- Administración intramuscular a ovejas	239
V.2.3.- Administración oral a ovejas	243
V.2.4.- Administración intravenosa a corderos	249
V.2.5.- Administración oral a corderos	254
V.2.6.- Concentraciones ruminales de norfloxacin	261
V.2.7.- Diferencias en la farmacocinética de la norfloxacin dependientes de la edad	266
V.2.8.- Consideraciones terapéuticas	270
VI.- CONCLUSIONES	273
VII.- RESUMEN	276
VIII.- BIBLIOGRAFIA	278

ABREVIATURAS

A	Coefficiente de la fase de distribución.
α	Constante híbrida.
ABC	Area bajo la curva cromatográfica.
AIC	Coefficiente de Akaike.
AUC	Area bajo la curva plasmática.
AUC _t	Area bajo la curva plasmática entre los tiempos 0 y t.
AUC _∞	Area bajo la curva plasmática entre los tiempos 0 e ∞.
B	Coefficiente de la fase de distribución lenta tricompartmental o de eliminación bicompartimental.
BC	Bicompartimental.
γ	Constante híbrida.
C	Coefficiente de la fase de eliminación.
γ	Constante híbrida.
C _{max}	Concentración plasmática máxima
Cl	Aclaramiento.
CLAE	Cromatografía líquida de alta eficacia.
C.V.	Coefficiente de variación.
ENRO	Enrofloxacin.
E.S.M.	Error estandar de la media.
F	Biodisponibilidad.
g	Gramo.
h	Hora.
I.M.	Intramuscular.
I.V.	Intravenosa.
kg	kilogramo.
K ₀₁	Constante de absorción.
K ₁₂	Constantes de transferencia entre compartimentos.
K ₂₁	"
K ₁₃	"
K ₃₁	"
K ₁₀	Constante de eliminación.
l	Litro.
MBC	Concentración bactericida máxima.
mg	Miligramo.
μ g	Microgramo.
MIC	Concentración mínima inhibitoria.
min	Minuto.
ml	Mililitro.

μl	Microlitro.
MRT _t	Tiempo medio de residencia entre los tiempos 0 y t.
MRT _{∞}	Tiempo medio de residencia entre los tiempos 0 e ∞ .
NOR	Norfloxacin.
p.o.	per os.
r	Coeficiente de correlación de Pearson.
sg	Segundo.
TC	Tricompartimental.
t_{max}	Tiempo de máxima concentración plasmática.
t_R	Tiempo de retención cromatográfica.
$t_{1/2k01}$	Semivida de distribución.
$t_{1/2\alpha}$	"
$t_{1/2k10}$	Semivida de eliminación.
$t_{1/2\beta}$	"
$t_{1/2\gamma}$	"
TCF	Fluido de las cajas tisulares.
V_c	Volumen del compartimento central.
V_{ee}	Volumen en el estado estacionario.
Vol/f	Volumen de distribución corregido por la fracción de dosis absorbida.

I.- JUSTIFICACION

I.- JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

El uso indiscriminado y la sobreutilización de los quimioterápicos en la medicina veterinaria actual, a dado lugar a la aparición de fenómenos de resistencia a la mayoría de los mismos.

En algunas ocasiones a contribuido a ello, su empleo empírico por trasladarse las pautas de utilización y dosificación en medicina humana a la práctica veterinaria.

Para evitar ésto en lo posible, se requieren exhaustivos trabajos para conocer las características farmacocinéticas de estos compuestos, que permitan su empleo más racional y a su vez eliminar el riesgo de presentación de residuos, cuando se utilizan en especies de abasto para consumo humano.

La norfloxacin es una fluoroquinolona con un amplio espectro de actividad a bajas dosis frente a los microorganismos de mayor incidencia en los óvidos, incluyendo gérmenes resistentes a β -lactámicos, tetraciclinas, aminoglicósidos y macrólidos, con una excelente penetración tisular, por lo que se presenta como una potencial alternativa a la terapéutica convencional de los procesos infecciosos de los óvidos.

Los datos disponibles hasta el momento sobre el comportamiento farmacocinético de las fluoroquinolonas en los rumiantes, indican la buena distribución de estas moléculas, así como, su capacidad de alcanzar concentraciones terapéuticas en los lugares de infección.

Al no existir trabajos sobre el comportamiento farmacocinético de la norfloxacin en los rumiantes, nos planteamos para este estudio los siguientes objetivos:

- Estudio del comportamiento farmacocinético de la norfloxacin tras su administración intravenosa, intramuscular y oral a ovejas.
- Estudio del comportamiento farmacocinético de la norfloxacin tras su administración intravenosa y oral a corderos.
- Estudio de las diferencias farmacocinéticas encontradas entre las diferentes vías y edades.
- Estudio de las concentraciones ruminales de norfloxacin en ovejas tras su administración por las diferentes vías.
- Estudio de la distribución rumen/plasma de la norfloxacin tras la administración intravenosa, intramuscular y oral en ovejas.

II.- REVISION BIBLIOGRAFICA

II.- REVISION BIBLIOGRAFICA

II.1.- GENERALIDADES DE LAS QUINOLONAS

II.1.1- EVOLUCION HISTORICA Y CLASIFICACION

La quimioterapia antimicrobiana se inició en la década de los años treinta con el descubrimiento de las sulfamidas. Posteriormente en los años cuarenta, se descubrió la penicilina, seguida de la eritromicina, tetraciclina y vancomicina en la década siguiente. Las penicilinas antiestafilocócicas y las cefalosporinas, aparecen en los años sesenta como respuesta al incremento en la frecuencia de presentación de estafilococos penicilin-resistentes y de infecciones nosocomiales por bacterias Gram negativas.

De forma similar, la genealogía de las quinolonas se remonta a 1962, cuando LESHNER y col. descubren el ácido nalidíxico, progenitor de las 4-quinolonas. Este descubrimiento se produjo durante la síntesis de la cloroquina, ofreciendo el ácido nalidíxico una actividad adecuada contra aerobios Gram negativos y alcanzando concentraciones suficientes en orina, todo lo cual le hacía un perfecto candidato para su utilización en el tratamiento de infecciones del tracto urinario, causadas generalmente por estos microorganismos. Sin embargo, las bajas concentraciones séricas y tisulares encontradas, que se atribuyen a su elevada unión a las proteínas plasmáticas, limitaron el uso del ácido nalidíxico para el tratamiento de las infecciones sistémicas.

Debido a su actividad específica contra las bacterias Gram negativas, el ácido nalidíxico, demostró también ser beneficioso en el tratamiento de infecciones

entéricas, particularmente en disenterías causadas por *Shigella sonnei* (MOORHEAD y PARRY, 1965).

Aún cuando era relativamente fácil aislar *in vitro* mutantes resistentes al ácido nalidíxico (BUCHBINDER y col., 1963), el grado de resistencia de los patógenos aislados clínicamente, parecía ser sorprendentemente bajo a pesar de su uso extensivo (McALLISTER y col., 1971; BALL y WALLACE, 1974). Este planteamiento inicial cambió con el tiempo, apareciendo fallos clínicos y desarrollo de resistencias (SMITH, 1986), lo cual unido a su toxicidad y estrecho espectro de actividad, hicieron que el ácido nalidíxico fuera reemplazado por otros agentes antimicrobianos.

A pesar de las continuas investigaciones dirigidas a descubrir compuestos de mayor efectividad, el desarrollo de las quinolonas se produjo lentamente. Así, las quinolonas descubiertas durante la década de los setenta (ej: ácido oxolínico, ácido pipemidínico y cinoxacina) no poseían más que ventajas marginales con respecto al ácido nalidíxico.

El verdadero progreso de las quinolonas llegó a principios de los ochenta con la introducción de un átomo de flúor en el núcleo básico, destacando la síntesis de la norfloxacin caracterizada por la presencia de un átomo de flúor en posición 6 y un anillo piperazínico en posición 7 (ITO y col., 1980).

La norfloxacin demostró actividad frente microorganismos Gram negativos y algunos Gram positivos (HOOPER y WOLFSON, 1985), patógenos intracelulares (BARRY, 1989), contra organismos resistentes a la asociación de sulfamida-trimetoprim y algunos micoplasmas (BRAUNIS, 1987).

Desde el descubrimiento de la norfloxacin, se han sintetizado numerosas

quinolonas como ciprofloxacina, enoxacina, ofloxacina y pefloxacina, denominandose a estos compuestos fluoroquinolonas o quinolonas de segunda generación.

Coincidiendo con el desarrollo de esta segunda generación de quinolonas se investiga en la actualidad la tercera generación que incluye agentes como la lomefloxacina, danofloxacina, fleroxacina, temafloxacina y tosufloxacina entre otras.

En la actualidad, algunos de estos compuestos son utilizados frecuentemente en medicina humana, mientras que otros están siendo testados para su introducción en la clínica práctica. Desde el punto de vista de la medicina veterinaria la única quinolona realmente utilizada ha sido la enrofloxacina (BAYTRIL®) (BAUDITZ, 1987, 1992), si bien, todas las fluoroquinolonas poseen unas propiedades farmacocinéticas y antimicrobianas que las hacen potencialmente aplicables en este campo.

En general, las quinolonas se han clasificado desde dos puntos de vista, el estructural y el generacional. La existencia de cuatro subgrupos estructurales en la familia de las quinolonas, puede inducir a pensar en una inadecuación del nombre genérico de estos compuestos, pero el uso actual del mismo engloba todas estas estructuras y sus derivados, si bien, es cierto que la mayor parte, proviene del ácido oxolínico y por tanto del grupo quinolónico, en este caso podríamos agruparlos en (SMITH, 1984):

- * Naftiridinas: ácido nalidíxico y enoxacina.
- * Quinolonas: ácido oxolínico, flumequina, norfloxacina, pefloxacina, ofloxacina, etc..
- * Cinolinas: cinoxacina .
- * Piridino-pirimidinas: ácido pipemidínico y ácido pironidínico.

Pero la clasificación más utilizada en la actualidad es la generacional, de igual forma que en las cefalosporinas. Las quinolonas pertenecientes a cada generación presentan unas características farmacocinéticas, de potencia y espectro de actividad análogas (ROY y SEGURA, 1986; SIPORIN, 1989):

- * ~~Quinolonas de primera generación o quinolonas clásicas:~~ ácido nalidíxico, ácido oxolínico, ácido pipemidínico, ácido piromidínico, cinoxacina y flumequina.
- * ~~Quinolonas de segunda generación o fluoroquinolonas:~~ norfloxacin, ciprofloxacina, ofloxacina, enoxacina, amifloxacina y pefloxacina.
- * ~~Quinolonas de tercera generación:~~ lomefloxacina, fleroxacin, temafloxacina, difloxacina, irloxacina, tosufloxacina y danofloxacina.

Nosotros utilizaremos esta terminología al hablar de las quinolonas ya que para el fin que perseguimos, esta clasificación se ajusta mejor a nuestras necesidades, así en adelante, nos referiremos a las quinolonas según a la generación a la cual pertenezcan.

II.1.2.- RELACION ESTRUCTURA ACTIVIDAD

La relación estructura-actividad y la química sintética asociada a las quinolonas fué revisada por ALBRECHT, (1977). En los años posteriores, se han descrito más de 500 nuevos compuestos análogos, estando en la actualidad algunos de ellos utilizándose clínicamente y otros sujetos a diversos estudios preclínicos y de evaluación.

La estructura básica de todos los compuestos derivados del ácido nalidíxico es el núcleo quinolónico, que posee un grupo carboxílico en posición 4, de ahí el nombre de 4-quinolonas con el que se les conoce.

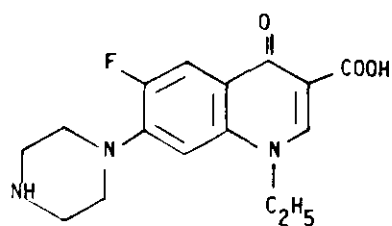
Presentándose en la Figura II.1 las estructuras químicas de las principales quinolonas.

La estructura de este anillo ha sido ampliamente modificada para mejorar la actividad, el espectro antimicrobiano e incrementar el volumen de distribución de estas moléculas, mejorando así sus características farmacocinéticas.

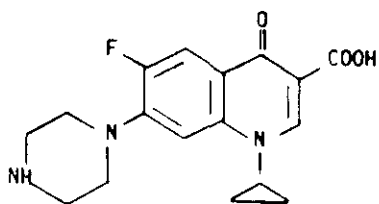
Todos estos compuestos con acción antibacteriana, poseen un grupo carboxílico en la posición 4 de la estructura básica (NEUMAN, 1988), mientras que las sustituciones propuestas en otros lugares poseen pocas ventajas; sin embargo, las sustituciones en las posiciones 1, 3 y 4, parecen ser esenciales para la actividad antibacteriana (VANCUTSEM y col., 1990), así mismo, las sustituciones en las posiciones 6, 7 y 8 parecen responsables del aumento de la actividad con respecto a las quinolonas de primera generación (SIPORIN, 1989).

El verdadero avance en el desarrollo de las quinolonas, se produjo con la introducción de un átomo de flúor en posición 6 y la síntesis de la flumequina. Esta sustitución confería a las moléculas mayor actividad antibacteriana (BROGARD y col., 1987; KLAPMAN y col., 1987), aumentando su potencia. Por otra parte, la presencia del átomo de flúor en posición 6, extendía la actividad de estas moléculas a algunas bacterias Gram positivas (NEER, 1988). (Figura II.2).

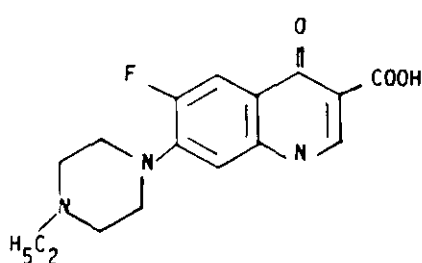
La sustitución de un grupo piperazínico en posición 7, ha incrementado también la actividad antibacteriana de las moléculas, especialmente contra *Pseudomona aeruginosa* (VANCUTSEM y col., 1990) y también mejora la penetrabilidad de las quinolonas a los tejidos, presentando éstas, volúmenes de distribución mayores que las anteriores quinolonas y una disminución de su unión a proteínas plasmáticas (NEUMAN, 1987 y 1988).



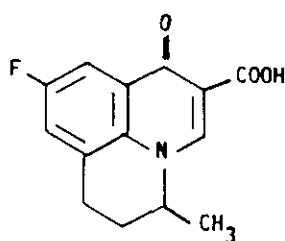
Norfloxacin



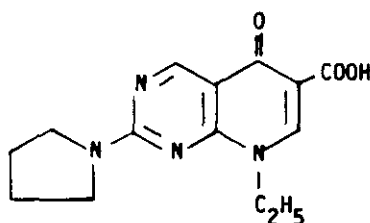
Ciprofloxacin



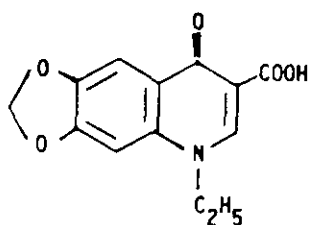
Enrofloxacin



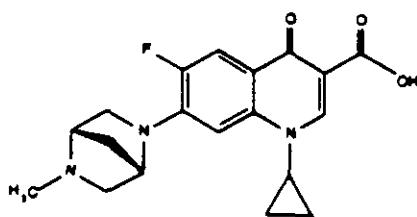
Flumequinone



Acido piromidico



Acido oxolinico



Danofloxacin

Figura II.1.- Estructura química básica de las principales quinolonas.

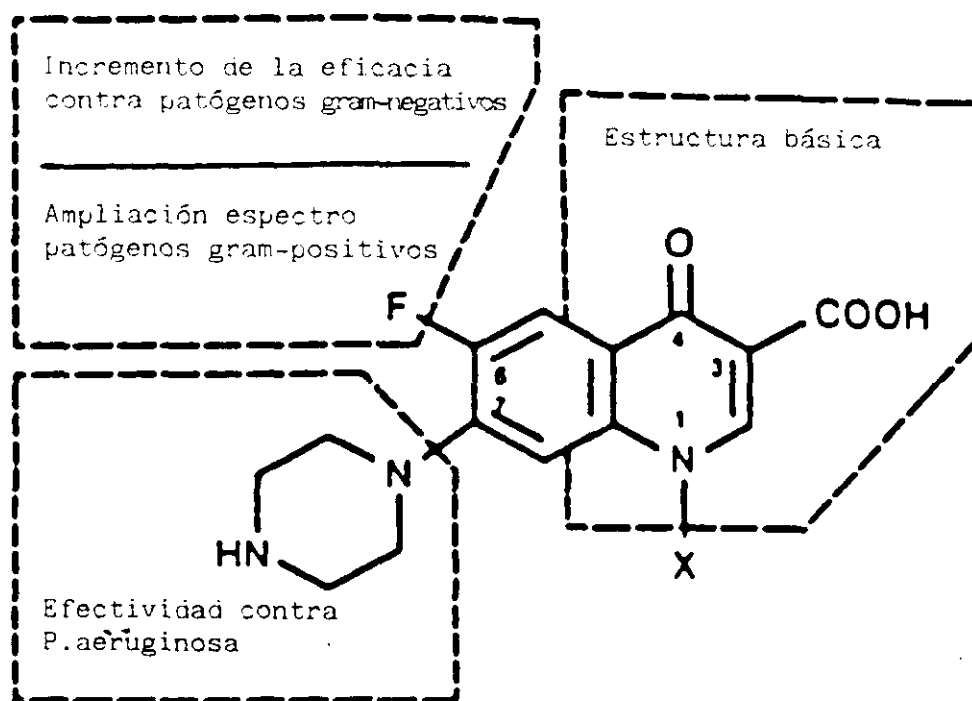


Figura II.2.- Relación estructura-actividad de las fluoroquinolonas.

Esta incorporación de un átomo de flúor en posición 6 y un grupo piperazínico en posición 7 ha dado paso a las denominadas fluoroquinolonas o quinolonas de segunda generación. La adición de grupos alquilo en posición "para" del anillo piperazínico y sobre el nitrógeno en posición 1, incrementan la solubilidad lipídica y el volumen de distribución de estos compuestos (VANCUTSEM y col., 1990).

Según WOLFSON y HOOPER (1985) la presencia de un grupo metilo en el anillo piperazínico parece incrementar la biodisponibilidad oral de las quinolonas (amifloxacin, ofloxacin, difloxacin, enrofloxacin y pefloxacin) aumentando la C_{max} , el AUC y el $t_{1/2\beta}$, lo cual se relaciona con el aumento de la liposolubilidad (NEUMAN, 1987).

Se creía, que el grupo ácido 3-carboxílico y el 4-carbonilo eran necesarios para que estos compuestos poseyeran actividad antibacteriana, sin embargo, CHU y col. (1988) demostraron que la transformación de las moléculas existentes en 2, 3, 4, 9-tetrahidroisotiazol 5,4b-quinolina 3,4-diona, producía un incremento significativo en la actividad biológica.

De los diferentes grupos probados en el C-6 (H, F, Cl, Br, Me, SMe, CoMe, CN, NO₂), la sustitución por un átomo de flúor es sin duda la mejor y de igual forma de las sustituciones probadas en el C-7, la del grupo piperazínico ha resultado ser la más favorable (MITSCHER y col., 1989).

La alta potencia de la norfloxacin contra bacterias Gram negativas y Gram positivas, incluyendo algunos cultivos de *Pseudomona aeruginosa*, así como sus altos niveles de actividad contra anaerobios ofrecen amplias expectativas. Estos valores son diez veces más altos que los descritos para las quinolonas clásicas. El

incremento de la potencia con la sustitución con flúor en C-6, se acompaña con un incremento paralelo en la unión y formación del complejo DNA-DNA girasa, así como en la capacidad de penetración celular, para la cual es también útil el grupo piperazínico en C-7. Todos estos descubrimientos sugieren que el átomo de flúor es importante para la unión y penetración, mientras que la identidad específica del sustituyente en C-7 parece ser de menor importancia para la efectividad de la unión pero, al mismo tiempo, permite la óptima penetración celular (MITSCHER y col., 1989).

La sustitución N-isopropil, como en el caso del ácido oxolínico, fue asociada en un principio a una pobre actividad antibacteriana. En cambio, fue sorprendente encontrar que el N-ciclopropil análogo de la norfloxacin y la ciprofloxacina, poseía una mejor potencia y espectro antibacteriano que la norfloxacin y una menor unión a proteínas plasmáticas, lo cual mejoraba sus características de disposición.

Otra serie de moléculas importantes son aquellas que poseen sustituciones aromáticas en N-1 como el análogo p-F-fenil denominado difloxacina. La potencia *in vitro* de este producto es equivalente a la de la norfloxacin, si bien su biodisponibilidad tras la administración oral es mayor, siendo especialmente potente frente a clamidias y rickettsias.

La inclusión de un átomo de oxígeno en posición 8 y N-1 (ofloxacina) aumenta el espectro de acción frente a bacterias Gram positivas y anaerobios, además, el núcleo tricíclico confiere una mayor estabilidad metabólica a estos compuestos. En este sentido, avanzan las investigaciones sobre agentes de tercera generación (SIPORIN, 1989; NEUMAN, 1988).

Las quinolonas de tercera generación, suelen presentar más de un átomo de flúor en su molécula y en algunos casos, el anillo piperazínico en posición 7 de las

quinolonas convencionales de segunda generación, ha sido sustituido por un anillo pirrolidínico.

Algunos autores señalan que la adición de un átomo de flúor en el carbono 8 del anillo quinolónico asegura la estabilidad metabólica de las quinolonas, disminuyendo su velocidad de eliminación y aumentando su actividad biológica (NEUMAN, 1988; VANCUTSEM y col., 1990). Entre estos nuevos agentes conviene destacar el AM-1091, que es un análogo de la ciprofloxacina, en la que se ha realizado una sustitución C-1 en el carbono 8 y el grupo piperazínico del carbono 7, ha sido sustituido por un radical 3-aminopirrolidinil. Este compuesto, presenta una potencia elevada contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, acompañada de una excelente actividad contra anaerobios (HIRAI y col., 1986).

Quizás el más notable avance ha sido el descubrimiento del A-62824 y sus congéneres (CHU y col., 1987). Este compuesto, representa una ruptura en los anteriores supuestos de la relación estructura-actividad de las quinolonas. Clásicamente los estudios indicaban que las modificaciones en el grupo carboxilo del C-3 no eran útiles (ALBRECHT, 1977). Sin embargo, en el A-62824, el grupo carboxílico del C-3 de la ciprofloxacina ha sido sustituido por un bioisómero unido a un anillo tiazólico, resultando una serie de moléculas con una excepcional potencia *in vitro* contra un amplio espectro bacteriano. El A-62824 es sustancialmente más potente que la ciprofloxacina.

En definitiva, nos encontramos ante un grupo de quimioterápicos en expansión, con grandes perspectivas de futuro y que se presentan como una atractiva posibilidad en la terapéutica de una gran variedad de infecciones bacterianas.

II.1.3.- PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LAS QUINOLONAS

Los datos bibliográficos sobre las constantes de disociación, solubilidad, relación pH-solubilidad y estabilidad de estos antimicrobianos y su relación con su estructura química son limitados.

Las quinolonas, como la norfloxacin o la ciprofloxacina, que presentan junto al grupo carboxílico un grupo básico (amina terciaria), poseen una liposolubilidad baja excepto en un rango de pH entre 6 y 8, mientras que, en condiciones más ácidas son susceptibles de precipitar. Probablemente, debido a estas características, se han encontrado casos de cristaluria en algunos animales (VANCUTSEM y col., 1990).

Se han determinado los valores del pK_a de muchas quinolonas, observandose que el correspondiente al grupo carboxílico es de un valor cercano a $6,0 \pm 0,3$ y que éste es relativamente independiente del tipo de sustitución en la posición 7; por otra parte, el pK_a correspondiente a la amina básica, puede variar entre 5 y 9, dependiendo de la naturaleza química de la cadena lateral (RILEY y col., 1989). (Tabla II.1)

Concretamente la norfloxacin posee una estructura anfótera que da lugar a su rápida disolución, absorción y penetración tisular (Figura II.3) (STEIN, 1987).

Conociendo las constantes de disociación de cada quinolona en particular, podremos establecer la relación solubilidad-pH así como el estado de ionización de cada molécula a un pH determinado. Esto último es de capital importancia para el establecimiento de la capacidad de las quinolonas para ser absorbidas a través del tracto gastrointestinal o de otras membranas biológicas.

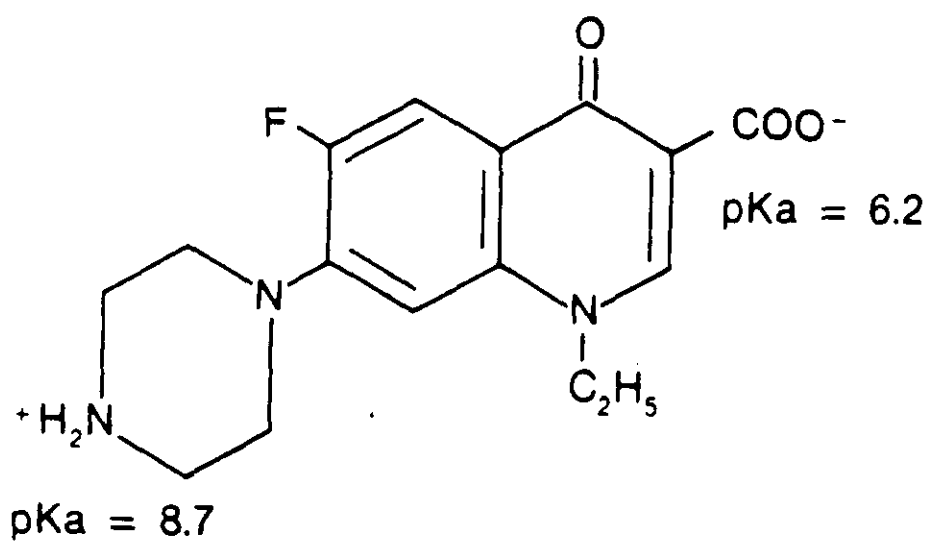


Figura II.3.- Disociación de la norfloxacin (STEIN, 1987).

QUINOLONA	pKa	Punto Isoeléctrico	Unión Proteínas (%)	Peso Molecular
Ciprofloxacina	6,0-8,8	7,4	20-30	331,3
Enoxacina	6,0-8,5	7,2	40	320,3
Norfloxacina	6,2-8,7	7,5	15	319,3
Pefloxacina	6,3-7,6	6,9	30	333,4
Ofloxacina	5,7-7,9	6,8	6-10	361,4
Fleroxacina	5,7-8,0	6,8	23	369,3

Tabla II.1.- Propiedades físico-químicas de las quinolonas.

II.1.3.1.-SOLUBILIDAD

La solubilidad (S) de una quinolona, está determinada por el pH de la solución y limitada por la solubilidad intrínseca (S_o) de la especie neutral, existiendo una relación matemática entre la solubilidad total (S) y la concentración de iones hidrógeno para las sustancias anfóteras como las quinolonas:

$$S = S_o (1 + pK_2/\{H^+\} + \{H^+\}/pK_1) \quad (1)$$

A partir de esta ecuación (1), varios autores han tratado de definir el perfil de solubilidad teórica de la norfloxacin utilizando los valores de pK_a de 6,2 y 8,7. SWANSON y col. (1983) utilizaron una solubilidad intrínseca (S_o) para la norfloxacin de 450 $\mu\text{g/ml}$, mientras que SPURLOCK (1986) la calculó a partir de unos valores de (S_o) de 880 $\mu\text{g/ml}$. Sin embargo, a causa de la carencia de controles adecuados, no es posible establecer cual de los dos perfiles pH-solubilidad es el más exacto.

Si bien en ambos casos, vemos que los perfiles de solubilidad de la norfloxacin estan alterados en valores de pH por debajo de 4, debido a los efectos de las sales ácidas insolubles.

II.1.3.2.- ESTABILIDAD

No hemos encontrado datos publicados sobre la estabilidad de las fluoroquinolonas. Los estudios realizados se centran en el ácido nalidíxico, el cual es inestable en soluciones alcalinas, además de ser susceptible de sufrir una descomposición fotolítica y pirrólysis (TAKASAGI, 1968).

Aún cuando las nuevas quinolonas parecen ser químicamente estables, es necesario un mayor conocimiento, siendo esta un área potencial de futuras investigaciones.

II.1.4. - MECANISMOS DE ACCION

Las quinolonas afectan a las células bacterianas al interferir en una amplia variedad de procesos relacionados con el DNA. Aún cuando el mecanismo de acción de las quinolonas no ha sido totalmente esclarecido, parece ser que el principal lugar de actuación de las mismas es sobre la DNA-girasa bacteriana, enzima esencial para el mantenimiento del superenrollamiento del DNA bacteriano que determina la configuración espacial de la molécula de DNA en el interior de la célula.

Las bacterias poseen una sola molécula de DNA bifilar de aproximadamente 1300 μm de longitud y un grosor aproximado de 2 nm que contiene unos cuatro millones de pares de nucleótidos (LEHNINGER, 1979), que se ha de situar en una bacteria de 2 μm de longitud y 1 μm de anchura, por lo que ha de plegarse de una forma organizada (ROY y SEGURA, 1986).

WORCELL (1974) estudió como el cromosoma de *Escherichia coli* está empaquetado, encontrando que éste está subdividido en cerca de 65 dominios, cada dominio tiene cerca de 20 μm de longitud y está ligado o conectado a un núcleo de RNA. La forma en que el tamaño de cada dominio se reduce es debido a un superenrollamiento del DNA característico. Cada superenrollamiento se produce en *Escherichia coli* y en la mayoría de las otras bacterias en contra de la dirección normal del estado helicoidal del DNA y de una forma lineal, y a esto se le denominó superenrollamiento negativo (WANG, 1974).

GELLERT y col. (1976) identificaron la enzima que cataliza el doble enrollamiento cromosómico del DNA e introduce el superenrollamiento negativo, denominando a este enzima DNA-girasa o E. coli topoisomerasa II. La DNA-girasa está compuesta por cuatro subunidades, 2 monómeros A con un peso molecular de

105.000 daltons y 2 monómeros B con un peso molecular de 95.000 daltons (HIGGINS y col., 1978), posiblemente con un tetrámero por dominio. Se cree que las subunidades A introducen un corte entre cada dominio dentro de cada cadena de la doble hélice del DNA cromosómico (GELLERT y col., 1976); se pensó entonces que el DNA era superenrollado por las subunidades B, las cuales utilizaban una molécula de ATP para cada giro del enrollamiento que producían. El número de giros que se da por dominio para producir la compactación es de aproximadamente 400. El superenrollamiento negativo resultante es cerrado dentro de cada dominio por las subunidades A, las cuales se piensa que sellan los cortes que ellas al principio habían introducido (GELLERT y col., 1976). Así las 4-quinolonas previenen que las subunidades A de la DNA-girasa bacteriana sellen los lugares donde inicialmente se introdujeron en el DNA cromosómico, lo cual estaría de acuerdo con la teoría descrita previamente por CRUMPLIN y SMITH, (1976), mientras que la novobiocina y los antibióticos estructuralmente relacionados (coumermicina A y clorobiocina), actúan primariamente sobre las subunidades B de la girasa bacteriana (WOLFSON y HOOPER, 1989).

Así podríamos resumir las funciones de la DNA-girasa bacteriana según WOLFSON y HOOPER, (1985):

- 1.- Superenrollamiento del DNA. Este proceso incluye la ruptura y resellado de las hélices del DNA.
 - 2.- Unión de la DNA-girasa al DNA con presencia de un lugar específico de unión.
 - 3.- Relajación del DNA superenrollado.
 - 4.- Ruptura del DNA.
 - 5.- Hidrólisis del ATP en ADP con la consiguiente liberación de energía.
 - 6.- Catenación y decatenación del DNA.
-

De las funciones de la DNA-girasa se desprende que ésta es necesaria para los procesos de replicación, algunos aspectos de la transcripción, reparación y recombinación del DNA.

De las seis funciones atribuidas a la DNA-girasa, las quinolonas inhiben el superenrollamiento del DNA, al igual que la novobiocina, pero interfiriendo en secuencias distintas del proceso. No inhiben la unión de la girasa al DNA pero inhiben la relajación del DNA superenrollado, a diferencia de la novobiocina que no influye en esta función. La ruptura del DNA no se ve afectada ni por las quinolonas ni por la novobiocina y los procesos de catenación y decatenación se encuentran inhibidos tanto por las quinolonas como por la novobiocina GOLDSTEIN (1987).

Basándonos en las subunidades de la DNA-girasa implicadas en estas funciones, las quinolonas inhibirán como hemos mencionado las subunidades A de la DNA-girasa, a la que según BROGARD y col. (1987) parecen unirse selectivamente impidiendo la unión final de las hebras cortadas y su superenrollamiento posterior, bloqueando por tanto todos aquellos procesos en los que se halle implicado el DNA, incluyendo la compactación del mismo, lo que explicaría que las bacterias expuestas a los inhibidores de la DNA-girasa se elongen.

NEUMAN (1988) considera que la inhibición del resellado inducido por la DNA-girasa en las dobles hebras del DNA por la acción de las quinolonas daría lugar a la degradación del DNA cromosómico, lo que explicaría el mecanismo de acción bactericida de estos compuestos.

Sugiriéndose que la presencia de cortes no unidos en las ramas del DNA, puedan actuar como señal de inducción para la formación de exonucleasas capaces de destruir al DNA y que esta producción de exonucleasas debería estar precedida por la necesaria síntesis del RNA (CRUMPLIN y SMITH, 1975; WOLFSON y col.,

1985; BROGARD y col., 1987). Este concepto de la novosíntesis de exonucleasas está en consonancia con los descubrimientos de que la actividad bactericida de las quinolonas testadas, se ve drásticamente reducida si la síntesis de RNA es inhibida por adición de rifampicina o si la síntesis de proteínas se inhibe por adición de cloranfenicol (SMITH, 1984).

Son numerosos los autores que han establecido la acción bifásica de las quinolonas. WOLFSON y HOOPER (1985), señalaron que las quinolonas son bactericidas tras 1 ó 2 horas de exposición a concentraciones de 1-4 veces la MIC de las mismas, pero señalan la existencia de un efecto paradójico, al disminuir la muerte de las bacterias cuando aumenta la concentración de fármaco. Este efecto paradójico es atribuido a que las quinolonas son capaces de inhibir la síntesis de RNA y proteínas, lo que daría lugar a una bacteriostasis (PATOY y REEVES, 1988). Estableciéndose que esta inhibición de la síntesis de RNA se produce por interferencia en la incorporación de adenina y tiouracilo (BROGARD y col., 1987).

Esta capacidad de inhibición de la síntesis de RNA y proteínas es diferente según la quinolona considerada, así la ciprofloxacina y la ofloxacina son más bactericidas que la norfloxacina o el ácido nalidíxico a concentraciones inhibitorias de la síntesis del RNA y proteínas. También estas quinolonas son menos susceptibles a la acción antagonista de la rifampicina, manteniendo la acción bactericida aunque a menor nivel de actividad (PATOY y REEVES, 1988; BROGARD y col., 1987). Así, mientras la administración concomitante de rifampicina y ácido nalidíxico da como resultado la bacteriostasis, la adición de otras quinolonas como ciprofloxacina, ofloxacina y amifloxacina sólo produce una significativa disminución de la mortalidad (CRUMPLIN y SMITH, 1975; STEVENS, 1980; DEITZ y col., 1966; REEVES y col., 1984).

La naturaleza del gen productor que causa la muerte bacteriana es todavía desconocido, aunque se ha demostrado que las quinolonas son capaces de inducir los mecanismos de reparación (SOS-asociados) (ENGLE y col., 1982; GUDAS y PARDEE, 1976; BENBROOK y MILLER, 1986). Células sometidas a una inducción continua de los mecanismos del sistema SOS producirán grandes cantidades de proteína **Sfi A**, con lo que no se originará la división y la filamentación celular (DRAPEAU y col., 1984). Las observaciones microscópicas de células expuestas a quinolonas muestran estos efectos. Sin embargo, el mecanismo de muerte celular por acción de las quinolonas está todavía poco explicado y así la letalidad actualmente asociada a la exposición a las quinolonas podría no pasar por la interrupción en la síntesis del DNA, sino, más bien, por la ampliación de los mecanismos de autorreparación celular, resultando un crecimiento anómalo y siendo en definitiva la filamentación y síntesis de proteínas específicas la causa de la lisis (SIPORIN, 1989).

En clara controversia con estas afirmaciones, McDANIEL y col. (1980) y WOLFSON y HOOPER (1989) han afirmado que la proteína **Sfi A** no puede ser codificada por uno de los genes pertenecientes al sistema SOS, ya que, las mutaciones que afectan a este sistema no tienen efecto en el incremento de la sensibilidad bacteriana al ácido nalidíxico.

A partir de descubrimientos realizados sobre cepas mutantes resistentes al ácido pipemidínico, se ha sugerido que las quinolonas pueden tener un segundo mecanismo de acción relacionado con la subunidad B de la DNA-girasa bacteriana que la haría hipersusceptible a la acción de estas (SMITH, 1984; SUMANO, 1993).

Por otra parte, se ha establecido la existencia de un lugar de unión o acoplamiento para las quinolonas en la subunidad B de la girasa bacteriana y se han mapeado y secuenciado mutaciones en la proteína girasa B que confieren resistencia

de bajo nivel a las quinolonas (YAMAGISHI y col., 1986). Se ha postulado sobre la existencia de dos puntos de unión en el complejo simétrico A₂-B₂ que envolverían a ambas subunidades de la girasa, lo cual se correspondería con la capacidad de las quinolonas de producir una única o doble ruptura en la cadena de ADN y con la interferencia que producen las mutaciones en las proteínas girasa tanto A como B en la unión de las quinolonas (SHEN y col., 1989).

II.1.5.- ESPECTRO DE ACTIVIDAD

Desde la introducción del primer miembro del grupo, el ácido nalidíxico, el espectro de actividad *in vitro* de las quinolonas se ha desarrollado considerablemente, las quinolonas de primera generación poseían un estrecho espectro de actividad limitado a bacterias aerobias y Gram negativas incluyendo *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* y *Proteus spp.*.

Comparadas con el ácido nalidíxico, las demás quinolonas de primera generación, flumequina, ácido pipemidínico y ácido oxolínico, no se diferencian mucho en cuanto a su actividad si bien, la presentación de resistencias era menos común.

Este perfil *in vitro* de las quinolonas de primera generación se completaba con una farmacocinética poco favorable, que limitaba el uso de estos agentes a las infecciones del tracto urinario.

Las fluoroquinolonas poseen un espectro de actividad microbiológica más amplio, una mayor potencia y unas mejores características farmacocinéticas que sus antecesoras.

Ya se ha descrito anteriormente la acción bifásica atribuida a las quinolonas

(CRUMPLIN y SMITH, 1975). Así, los resultados obtenidos utilizando ciprofloxacina sobre *E. coli*, muestran que los efectos bacteriostáticos están en torno a 0,005 $\mu\text{g/ml}$, mientras que, cuando la concentración de ciprofloxacina se incrementa, el efecto es progresivamente más bactericida hasta 0,15 $\mu\text{g/ml}$ (efecto bactericida máximo). Por encima de estas concentraciones, el fármaco es progresivamente menos bactericida. Los resultados con ofloxacina y norfloxacina ocupan posiciones intermedias con concentraciones máximas bactericidas de 0,9 y 1,5 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente (SMITH y LEWIN, 1988).

Estos datos son fundamentales para la aplicación práctica, ya que las concentraciones máximas bactericidas determinadas para ciprofloxacina, ofloxacina y norfloxacina son fácilmente alcanzables en el suero durante la terapia (LOCKLEY y col., 1984; HOOPER y WOLFSON, 1985), mientras que la concentración máxima bactericida del ácido nalidíxico, aún cuando se obtiene en orina está lejos de las concentraciones séricas.

Así los valores de MIC que posteriormente serán discutidos, sólo proporcionan información acerca de la capacidad de las fluoroquinolonas de inhibir la multiplicación bacteriana y son en general, poco informativos sobre la capacidad de estos fármacos de producir la muerte bacteriana.

Otro hecho que es necesario tener en cuenta a la hora de interpretar los estudios *in vitro*, es que las características farmacocinéticas y las transformaciones metabólicas que sufren *in vivo* los agentes antibacterianos van a condicionar en gran medida su actividad terapéutica, lo que es particularmente importante en el caso de las quinolonas, cuyas moléculas van a ser ampliamente biotransformadas. Estos hechos explican las diferencias encontradas entre los resultados *in vitro* e *in vivo*.

Por otro lado, es conveniente señalar que la susceptibilidad de las bacterias

a las quinolonas *in vitro* es afectada por diferentes factores como el pH del medio, así mientras la norfloxacin, ciprofloxacina y ofloxacina son menos activas a pH 5,6 que a pH 7,4, el ácido nalidíxico, flumequina, ácido oxolínico y cinoxacina son más activas a pH 5,6 que a pH 7,4 (SMITH y RATCLIFFE, 1986; REEVES y col., 1984). Por otro lado, en presencia de cationes bivalentes se pueden formar quelatos con las quinolonas, hecho que sucede con el calcio y el magnesio pero no con el zinc (SMITH y RATCLIFFE, 1986).

Se ha estudiado la relación entre la concentración bactericida mínima (MBC) y la MIC para algunas quinolonas, así para norfloxacin, pefloxacina y enoxacin estaba entre 1 y 2 para la mayoría de los organismos testados y entre 2 y 3 para *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus faecalis*. Mientras que ciprofloxacina poseía valores más elevados de MBC/MIC que las tres quinolonas citadas anteriormente para pseudomonas y la mayoría de estafilococos, pero bajos valores para las enterobacterias y para *Streptococcus agalactiae* y *faecalis* (AUCKENTHALER y col., 1986; SMITH, 1986).

Son muchos los trabajos realizados sobre la actividad *in vitro* de las fluoroquinolonas, coincidiendo en general los diferentes autores consultados en los resultados obtenidos. Así, presentaremos los datos, en cuanto sensibilidad de los diferentes microorganismos a las fluoroquinolonas más importantes, utilizando tablas. A continuación comentaremos en líneas generales la sensibilidad a las fluoroquinolonas de las principales familias bacterianas o aquellas citas que supongan algún interés especial.

II.1.5.1.- ENTEROBACTERIAS

Las fluoroquinolonas son en general muy activas contra todas las especies de la familia *Enterobacteriaceae* si bien, en la clínica, el frecuente uso del ácido nalidíxico a bajas dosis, ha producido la selección de bacilos entéricos resistentes al mismo, siendo en general las fluoroquinolonas mucho menos activas contra éstos (VERSCHRAEGEN y col., 1988). Si bien los autores coinciden en que, aún cuando los valores de MIC₉₀ pueden estar elevados por la presencia de resistencias, los valores del MIC₅₀ no son afectados marcadamente por este hecho (BARRY, 1989).

En la Tabla II.2 se presentan las medias de MIC₅₀ publicadas para las diferentes especies de bacilos entéricos, siendo en general muy similares las publicadas por los distintos autores.

II.1.5.2- OTRAS BACTERIAS AEROBIAS GRAM NEGATIVAS

En general, los fármacos testados resultan ser altamente activos contra *Campylobacter jejuni* y otros patógenos intestinales como *Vibrio spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Escherichia coli* enterotoxigénico, *Branhamella cantanhalis*, *Neisseria meningitidis* y *Haemophilus influenzae* (FERNANDES, 1988).

Los aislados de *Pseudomona aeruginosa*, incluyendo cepas resistentes a β -lactámicos y aminoglicósidos, son sensibles a la ofloxacin, norfloxacin y ciprofloxacina. Mientras que otras especies de pseudomonas, generalmente no son sensibles a las fluoroquinolonas, si bien, pueden serlo a quinolonas de nueva síntesis como CI-938 y DJ-6783 (BARRY, 1989; WALKER y WRIGHT, 1987).

Brucella melitensis es susceptible a la ciprofloxacina, pero resistente al ácido

nalidíxico y al ácido pipemidínico (BOSCH y col., 1986), *Bordetella bronchiseptica* es susceptible a la ciprofloxacina y a la norfloxacina (APPELHAMM y col., 1986) y *Pasteurella multocida* es susceptible a las fluoroquinolonas (WOLFSON y HOOPER, 1985). Estos datos se resumen en la Tabla II.3.

II.1.5.3.- AEROBIOS GRAM POSITIVOS

Las fluoroquinolonas son mucho menos activas contra los estafilococos y estreptococos que contra las bacterias aerobias Gram negativas. Todos los compuestos, son más activos contra los estafilococos que contra los estreptococos.

En la Tabla II.4 se presentan los resultados de los test *in vitro* contra algunos patógenos Gram positivos. La mayoría de las quinolonas son ligeramente efectivas contra los cocos Gram positivos, mientras que los estreptococos, enterococos y los bacilos Gram positivos, deberían ser considerados como resistentes a la mayoría de las quinolonas (BARRY, 1989; FERNANDES, 1978); solamente algunas quinolonas de síntesis reciente como la CI-934, CI-938 y A-61827, son activas contra microorganismos Gram positivos. En contraste, la ciprofloxacina o la norfloxacina poseen una pobre actividad anti-estreptocócica (BARRY y JONES, 1987).

Los estafilococos, aún cuando son susceptibles a las fluoroquinolonas, presentan MIC medias justo por debajo de los puntos de susceptibilidad. A-61827 y CI-983 son una importante excepción al comportarse con mucha mayor potencia anti-estafilocócica. No existiendo diferencias en cuanto a la susceptibilidad a las quinolonas entre los estafilococos coagulasa-positivos y los coagulasa-negativos (PHILLIPS y col., 1988) y entre los estafilococos meticilín-resistentes y los meticilín-susceptibles (BARRY y JONES, 1987).

II.1.5.4.- MYCOBACTERIAS

Las micobacterias son ligeramente susceptibles a las fluoroquinolonas, excepto a la ciprofloxacina y la CI-934 que son particularmente activas contra *Mycobacterium fortuitum* (Tabla II.5). En combinación con otros agentes pueden ser utilizadas en el tratamiento de tuberculosis resistentes y en infecciones por micobacterias en enfermos de SIDA (DAVIES y col., 1987)

II.1.5.5.- BACTERIAS ANAEROBIAS

Los datos en cuanto a la susceptibilidad de los microorganismos anaerobios se presentan en la Tabla II.6. Contra el grupo de bacterias anaerobias, las quinolonas no poseen una gran relevancia clínica, si bien la CI-938 y otras quinolonas de nueva síntesis se pueden considerar una importante excepción.

Dentro de los organismos anaerobios, *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.* y los cocos Gram positivos son resistentes a la norfloxacina y la pefloxacina *in vitro*, si bien, *Bacteroides spp.* y los cocos Gram positivos parecen ser menos resistentes a la ofloxacina y la ciprofloxacina (HENWOOD y MONK, 1968; FELMINGHAM y col., 1985).

Aunque los inhibidores de la girasa poseen cierta actividad contra los microorganismos anaerobios, muchos investigadores indican que éstos deberían ser considerados como clínicamente resistentes (FERNANDES, 1988; PROBHALA y col., 1984; WATT y BROWN, 1986). Si bien, algunas de las nuevas fluoroquinolonas, como la temafloxacina, A-61827 y CI-938, tienen alguna actividad contra anaerobios.

II.1.5.6.- BACTERIAS INTRACELULARES

Numerosas bacterias intracelulares, incluidas *Clamidia spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Legionella spp.*, *Brucella spp.*, *Micobacterium tuberculosis* son inhibidas por las concentraciones de fluoroquinolonas obtenidas clínicamente (NEU, 1987b).

II.1.5.7.- HONGOS

Aunque los inhibidores de la girasa no tienen actividad intrínseca sobre los hongos, ya que estos son eucariotas, se ha postulado el aumento de la actividad antifúngica de otros compuestos en presencia de las quinolonas.

A pesar que ROY y SEGURA, (1986) habían señalado que las quinolonas no presentan actividad frente a los hongos, se ha observado que aunque la norfloxacin no posee actividad antifúngica intrínseca, existía sinergismo entre la anfotericina B y la norfloxacin frente a *Candida spp.* (HOLMES y col., 1985; ENG y col., 1982). Este aumento en la actividad antifúngica no es explicable en cuanto a su acción sobre la DNA-girasa, pero sí por la inhibición de la actividad del RNA y de la síntesis de proteínas (HOLMES y col., 1985).

QUINOLONA	Escherichia	Citrobacter	Enterobacter	Klebsiella	Serratia	Proteus	Morganella	Providencia	Salmonella	Shigella	Yersinia
Acido nalidixico	2.0	4.0	4.0	2.0	1.0	4.0	1.0	4.0	4.0	4.0	2.0
Acido pipemidico	1.0	4.0	2.0	2.0	1.0	2.0	1.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Cinoxacina	2.0	4.0	4.0	4.0	4.0	2.0	1.0	4.0	2.0	4.0	4.0
Acido oxolinico	<0.25	<0.25	<0.25	<0.25	<0.25	<0.25	<0.25	<0.25	0.25	0.5	0.25
Norfloxacina	0.06	0.06	0.06	0.12	0.12	0.06	0.06	0.12	0.03	0.03	0.06
Enoxacina	0.12	0.12	0.12	0.25	0.25	0.25	0.12	0.5	0.12	0.12	0.12
Ciprofloxacina	0.03	<0.03	0.03	0.06	0.12	0.03	0.015	0.06	0.03	0.03	<0.03
Amifloxacina	<0.03	0.06	0.06	0.12	0.25	0.06	0.06	0.25	0.12	0.06	0.12
Pefloxacina	0.12	0.12	0.12	0.25	0.25	0.25	0.25	1.0	0.12	0.06	0.12
Ofloxacina	0.06	0.12	0.06	0.12	0.25	0.06	0.06	0.25	0.12	0.12	0.06
Difloxacina	0.12	0.25	0.25	0.25	1.0	0.5	0.5	0.5	0.12	0.12	0.06
Lomefloxacina	0.12	0.25	0.12	0.25	0.5	0.25	0.12	0.5	0.25	0.12	0.12
Temafloxacina	0.06	0.06	0.12	0.12	1.0	0.5	0.25	0.5	0.12	0.06	0.06
Fleroxacina	0.06	0.12	0.12	0.12	0.25	0.12	0.06	0.25	0.12	<0.06	0.06

Tabla II.2. - Actividad *in vitro* de las quinolonas frente a las principales enterobacterias. Los datos representan las MIC₅₀ medias (µg/ml) descritas en la bibliografía.

QUINOLONAS	Campylobacter spp	Aeromonas spp	Acinetobacter spp	Pseudomona aeruginosa	Pseudomona maltophilia	Haemophilus influenzae	Haemophilus ducreyi	Neisseria meningitidis	Neisseria gonorrhoeae	Branhamella spp
Acido nalidixico	8.0	0.25	0.4	128	26	0.5	> 4.0	0.5	0.5	4.0
Acido pipemidínico	8.0	0.5	2.0	16	128	2.0	0.5	0.5	----	----
Cinoxacina	8.0	2.0	64	>128	----	0.5	> 4.0	2.0	----	----
Acido oxolinico	1.0	0.5	8.0	16	8.0	2.0	1.0	1.0	----	1.0
Norfloxacin	0.5	0.015	4.0	1.0	8.0	0.06	0.12	<0.03	0.03	0.25
Enoxacina	0.5	0.03	2.0	1.0	8.0	0.12	0.12	<0.03	0.12	0.25
Ciprofloxacina	0.06	<0.015	0.25	0.25	4.0	0.008	0.03	<0.03	0.004	0.03
Amifloxacina	0.5	0.06	0.25	1.0	4.0	0.06	0.12	0.015	0.06	0.06
Pefloxacina	0.25	0.015	2.0	1.0	4.0	0.03	0.12	0.015	0.015	0.12
Otloxacina	0.12	0.015	0.25	1.0	4.0	0.03	0.03	0.015	0.015	0.12
Difloxacin	1.0	0.06	0.06	4.0	4.0	0.15	0.03	0.015	0.03	0.06
Lomelofloxacin	----	0.06	0.5	2.0	8.0	0.06	----	0.015	0.015	0.12
Temafloxacina	----	0.06	0.06	2.0	4.0	<0.03	----	<0.03	<0.03	0.03
Flerofloxacin	0.25	0.015	0.25	2.0	4.0	0.03	0.03	<0.03	0.03	0.25

Tabla II.3.- Actividad *in vitro* de las quinolonas frente a las principales bacterias no entéricas Gram negativas. Los datos representan las MIC₅₀ medias (µg/ml) descritas en la bibliografía.

QUINOLONAS	Staphylococcus aureus	Staphylococcus spp	Streptococcus pyogenes	Streptococcus agalactiae	Streptococcus pneumoniae	Enterococcus spp	Listeria monocytogenes	Corynebacterium Grupo JK	Nocardia asteroides
Acido nalidixico	64	64	>128	>128	>128	>128	>128	>128	128
Acido pipemidico	64	32	>128	>128	>128	>128	>128	---	---
Cinoxacina	128	128	>128	>128	>128	>128	>128	---	---
Acido oxolinico	4.0	4.0	>64	>64	>64	>64	>64	---	---
Norfloxacin	1.0	1.0	4.0	8.0	4.0	4.0	4.0	2.0	32
Enoxacina	1.0	1.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	4.0	8.0
Ciprofloxacina	0.25	0.25	0.5	1.0	1.0	2.0	1.0	0.25	2.0
Amitloxacin	0.5	1.0	8.0	8.0	8.0	4.0	8.0	---	32
Pefloxacin	0.5	0.5	8.0	16	8.0	4.0	8.0	1.0	16
Ofloxacin	0.5	0.5	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	0.5	4.0
Difloxacin	0.25	0.25	2.0	2.0	2.0	4.0	1.0	1.0	4.0
Lomefloxacina	0.5	0.5	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	2.0	---
Tenofloxacina	0.12	0.25	0.5	1.0	0.5	2.0	1.0	0.5	---
Fleroxacin	0.5	0.5	4.0	8.0	8.0	4.0	2.0	1.0	---

Tabla II.4.- Actividad *in vitro* de las quinolonas frente a las principales bacterias gram positivas. Los datos representan las MICs₉₀ medias (μ g/ml) descritas en la bibliografía

QUINOLONAS	M. tuberculosis	M. kansasii	M. avium	M. fortuitum
Norfloxacin	2,0	4,0	>16	8,0
Enoxacin	2,0	4,0	>16	8,0
Ciprofloxacin	1,0	1,0	4,0	0,25
Ofloxacin	1,0	1,0	8,0	1,0
Difloxacin	1,0	1,0	16	2,0
Fleroxacin	2,0	4,0	>16	8,0
Pefloxacin	2,0	1,0	>8,0	---

Tabla II.5.- Actividad *in vitro* de las quinolonas frente a las principales micobacterias. Los datos representan las MICs₉₀ medias (μg/ml) descritas en la bibliografía.

Quinolonas	Bacteroides fragilis (grp.)	Bacterioide melaninogenicus	Fusobacterium	Peptococcus spp	Peptostreptococcus	Clostridium C. difficile	Otras spp
Acido nalidixico	512/512	256/256	256/512	256/512	256/512	128/128	32/>512
Norfloxacin	64/128	4,0/32	16/16	2,0/8,0	2,0/8,0	64/128	32/128
Enoxacin	16/32	4,0/16	16/32	4,0/8,0	8,0/8,0	128/128	16/32
Ciprofloxacina	8,0/16	1,0/4,0	2,0/4,0	0,5/2,0	0,5/0,5	16/32	4,0/8,0
Pefloxacina	16/32	8,0/16	16/31	4,0/8,0	2,0/8,0	64/128	16/64
Ofloxacina	4,0/8,0	1,0/2,0	2,0/4,0	4,0/4,0	0,5/2,0	16/16	2,0/64
Difloxacina	4,0/8,0	2,0/4,0	1,0/2,0	2,0/4,0	0,5/2,0	8,0/8,0	2,0/4,0
Fleroxacin	16/32	-----	-----	4,0/8,0	2,0/2,0	-----	1,0/2,0
Terafloxacina	2,0/4,0	-----	-----	-----	1,0/2,0	-----	0,25/0,5
Lomefloxacina	8,0/8,0	-----	-----	4,0/8,0	1,0/4,0	16/16	2,0/4,0

Tabla II.6.- Actividad *in vitro* de las quinolonas frente a las principales bacterias anaeróbicas. Los datos representan las relaciones MIC₅₀/MIC₉₀ medias descritas por diferentes autores.

II.1.6.- ACTIVIDAD DE LAS QUINOLONAS CONTRA PATOGENOS ANIMALES

No existe una documentación amplia sobre el espectro de acción y la actividad de las nuevas quinolonas sobre las cepas de mayor incidencia en medicina veterinaria. Sin embargo, el empleo de fluoroquinolonas para el tratamiento de las enfermedades infecciosas de los animales, ofrece algunas ventajas frente a todos los antibióticos y quimioterápicos hasta ahora disponibles (BAUDITZ, 1992):

- 1.- Actividad sobre bacterias Gram negativas, micoplasmas, así como contra algunas bacterias Gram positivas.
- 2.- Bactericida y micoplasmicida a concentraciones muy bajas.
- 3.- Eficacia sobre gérmenes resistentes o multiresistentes a antibióticos.
- 4.- Buena absorción en administración parenteral y oral, con elevada biodisponibilidad en líquidos orgánicos y órganos.
- 5.- Buena tolerancia.
- 6.- Ausencia de incompatibilidades importantes con otros quimioterápicos.

La eficacia de la enrofloxacin contra los patógenos de mayor frecuencia de presentación en las aves, se ha estudiado tanto *in vivo* (BAUDITZ, 1992) como *in vitro* (FLAMMER y col., 1991). La actividad *in vitro* de la flumequina contra las bacterias de presentación más común en las aves fué determinada por DORRESTEIN y col. (1983), y la del ácido oxolínico en bacterias aisladas a partir de aves de corral por ARCHINBAULT y AMBROGGI (1987); resultando estas quinolonas muy eficaces contra las principales bacterias Gram negativas y micoplasmas más comunes en estas especies.

La actividad de la enrofloxacin frente a las especies bacterianas que aparecen con mayor frecuencia en la patología infecciosa de perros y gatos ha sido ampliamente documentada (BAUDITZ y JONES, 1987; SCHEER, 1987), teniendo esta quinolona una acusada acción bactericida no sólo frente a los principales gérmenes patógenos Gram negativos, como *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Proteus spp.*, *Pasteurella spp.*, *Bordetella spp.*, *Haemophilus spp.*, etc., sino también frente a otras especies Gram positivas, incluyendo *Mycoplasmas spp.*, con valores de MIC o MBC particularmente favorables frente a los antibióticos de uso más común en la práctica veterinaria. Es de especial interés, la actividad de la enrofloxacin frente a microorganismos multirresistentes a los β -lactámicos, tetraciclinas, aminoglucósidos y macrólidos; solamente algunas cepas de *Pseudomona aeruginosa*, *Stafilococcus aureus*, *Stafilococcus intermedius* y *Escherichia coli* fueron resistentes (ROMAGNOLI y col., 1992).

La actividad de las quinolonas sobre los microorganismos de mayor frecuencia de presentación en los animales domésticos queda expuesta en la Tabla II.7a, II.7b y II.7c (SCHEER, 1987b; GEDEK, 1987; ZIV y col., 1986; NOUWS y col., 1988; MEVIUS y col., 1990a; HANNAN y col., 1989; GILES y col., 1991).

Gram negativo	MIC90		
	Ciprofloxacina	Enrofloxacin	Norfloxacin
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	0,007	0,015	0,03
<i>Actinobacillus suis</i>	<0,001	0,015	0,03
<i>Haemophilus parasuis</i>	<0,001	<0,001	0,03
<i>Haemophilus somnus</i>	0,015	0,015	0,125
<i>Pasteurella haemolytica</i>	0,007	0,03	0,06
<i>Pasteurella multocida</i>	0,007	0,015	0,06
<i>Proteus mirabilis</i>	0,06	>0,128	1,0
<i>Escherichia coli</i> b-hemolíticos	0,06	----	1,0
<i>Escherichia coli</i> spp.	0,06	<0,128	1,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,06-0,25	>0,128	1,0
<i>Actinobacter calcoaceticum</i>	0,5	----	8,0
<i>Salmonella</i> spp.	0,06	<0,128	1,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,06	<0,128	1,0
<i>Campylobacter</i> spp.	----	0,03-0,05	0,5
<i>Moraxella bovis</i>	----	0,03-0,05	----
<i>Serratia</i> spp.	----	----	0,2
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1,0	0,4	0,2
<i>Bacteroides</i> spp.	----	0,8-12,5	0,128

Tabla II.7a.- Actividad *in vitro* de las principales fluoroquinolonas frente a los patógenos de mayor frecuencia de presentación en los animales domésticos. Los datos representan las MIC₉₀ medias (µg/ml) descritas por diferentes autores.

Gram positivos	MIC90		
	Ciprofloxacina	Enrofloxacin	Norfloxacina
<i>Actinomyces pyogenes</i>	1,0	1,0	8,0
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	0,06	0,125	0,5
<i>Erysipelotrix rhusiopathiae</i>	0,03	0,06	0,125
<i>Rhodococcus equi</i>	1,0	1,0	4,0
<i>Streptococcus equi</i>	1,0	1,0	8,0
<i>Streptococcus suis</i>	1,0	1,0	8,0
<i>Streptococcus zooepidermicus</i>	1,0	1,0	8,0
<i>Streptococcus hemolyticus</i>	1,0	----	8,0
<i>Streptococcus spp.</i>	0,5	0,06-4	2,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,12	0.03-0,5	1,0
<i>Staphylococcus intermedius</i>	0,12-0,5	----	1,0
<i>Clostridium perfringens</i>	----	0,2-2,0	----
<i>Clostridium difficile</i>	----	----	0,128

Tabla II.7b.- Actividad *in vitro* de las principales fluoroquinolonas frente a los patógenos de mayor frecuencia de presentación en los animales domésticos. Los datos representan las MICs₉₀ medias (μg/ml) descritas por diferentes autores.

Mycoplasma	MIC90		
	ciprofloxacin	enrofloxacin	norfloxacin
M. hyopneumoniae	0,01	0,1	0,1
M. hydrhins	0,25	0,25	2,5
M. bovis	1,0	0,25	10,0
M. bovigenitalium	0,25	0,25	0,5
M. dispar	0,01	0,25	0,25
M. ovipneumoniae	0,01	0,25	0,1
M. capricolum	0,25	0,25	1,0
M. gallisepticum	0,025	0,1	0,25
M. synoviae	0,025	0,1	1,0
M. meleagridis	0,1	1,0	0,5

Tabla II.7c.- Actividad *in vitro* de las principales fluoroquinolonas frente a los patógenos de mayor frecuencia de presentación en los animales domésticos. Los datos representan las MICs₉₀ medias (µg/ml) descritas por diferentes autores.

II.1.6.- RESISTENCIAS

Los mecanismos implicados en la aparición de resistencias a las quinolonas han sido ampliamente estudiados, coincidiendo los distintos autores en que estas resistencias son de tipo cromosómico, con tasas de mutación elevadas mientras que en general, las resistencias de tipo plasmídico, están desestimadas. Aunque algunos autores (MUNSHI y col., 1987; CRUMPLIN, 1987) han encontrado evidencias que podrían indicar algún tipo de resistencia plasmídica, la mayoría defienden la hipótesis de una inhibición de la transferencia de plásmidos por conjugación bajo el efecto de las quinolonas (BROGARD y col., 1987; HENWOOD y MONK, 1988; HOLMES y col., 1985).

Se ha determinado la existencia de 4 genes capaces de conferir resistencia al ácido nalidixico: **nal A**, **nal B**, **nal C** y **nal D** (LAMELAND y col., 1981; SMITH, 1984), estando determinadas por estos genes las cuatro mutaciones cromosómicas capaces de alterar la sensibilidad de *Escherichia coli* a las quinolonas: **nal A** produce un incremento en la resistencia a la mayoría de las quinolonas por acción sobre la girasa bacteriana (factor ≥ 10); **nal B** produce una disminución en la permeabilidad de la membrana de la bacteria, que se traduce en una disminución de la sensibilidad de bajo nivel (factor ≤ 4) y el **nal C** y **nal D** afectan a la subunidad B de la girasa originando una alteración de las respuestas bacterianas a las quinolonas (SMITH, 1984).

Según este autor, cada quinolona se comporta de manera diferente con respecto a las distintas mutaciones, habiéndose demostrado que las quinolonas más potentes muestran una actividad muy alta frente al mutante **nal A**, aumentando la resistencia a ellos con un factor > 10 . Mientras que, la mutación **nal B** sólo produce resistencia

a algunas quinolonas. Las quinolonas que poseen mayor actividad (ciprofloxacina, norfloxacina y ofloxacina) no se ven generalmente alteradas por este tipo de mutación.

Con respecto a la mutación **nal C**, se han descrito comportamientos paradójicos, puesto que el ácido pipemidínico resultaba ser mas activo contra el mutante que contra la cepa salvaje. Este tipo de respuestas también ha sido descrita en el caso de las fluoroquinolonas. Sugiriendo este descubrimiento que las fluoroquinolonas, pueden tener un mecanismo de acción más relacionado con el del ácido pipemidínico que con el de otras quinolonas. Los resultados obtenidos con el mutante **nal D** apoyan esta teoría, ya que esta mutación altera la respuesta de los microorganismos a los fármacos estudiados, por lo que puede haber un segundo mecanismo de acción a nivel de la subunidad B de la DNA-girasa (SMITH, 1984).

WOLFSON y HOOPER (1989), en su artículo de revisión sobre las implicaciones entre la DNA-girasa y la resistencias a las quinolonas, consideran que la resistencia bacteriana a estos agentes debe ser estimada en dos categorías: resistencia adquirida y resistencia intrínseca.

En cuanto a la resistencia adquirida, la selección de bacterias resistentes producida por las nuevas quinolonas en comparación con el ácido nalidíxico, es de 100-1000 veces menos frecuente en cuanto a su capacidad de producir mutantes bacterianos altamente resistentes. Indicándose, en general, una frecuencia de mutacion menor de 1 en 10^{10} .

Sin embargo, es posible seleccionar bacterias ampliamente resistentes mediante pases seriados con concentraciones incrementadas. Además, estos aislados pueden poseer resistencia pleiotrópica a bajas concentraciones a otros agentes antibacterianos no relacionados estructuralmente con las quinolonas, como la tetraciclina, el cloranfenicol, el trimetoprim y β -lactámicos.

En cuanto a los mecanismos de resistencia a las quinolonas, se han identificado un amplio número de *loci* génicos asociados a la resistencia a las quinolonas (YOSHIDA y col., 1989). En *Escherichia coli*, algunas de estas mutaciones se localizaban en el gen **gyr A** (**nal A**, **nfx A**, **nor A**, **cfx A** y **ofx A**) y en el gen **gyr B** (**nal C** y **nal D**), los cuales implican a la subunidad A y a la subunidad B de la DNA-girasa respectivamente.

Otras mutaciones han sido identificadas en otros *loci* como **nal B**, **nfx B**, **nor B**, **nor C** y **cfx B**, éstas parecen producir una disminución en la permeabilidad de la membrana a estos fármacos, pero todavía no se conoce en profundidad el mecanismo por el que otros *loci* como **crp**, **cya**, **icd**, **mar A** etc., producen resistencia de bajo nivel al ácido nalidíxico o a otras quinolonas. Además, hay datos que sugieren la destrucción de estos fármacos como un mecanismo de resistencia bacteriana a las quinolonas (YOSHIDA y col., 1989).

En el caso de *Escherichia coli*, la selección seriada de estirpes bacterianas altamente resistentes a la norfloxacin, la ofloxacin y la ciprofloxacina y la subsiguiente transferencia de los genes mutantes individualmente a bacterias de cepas salvajes, ha revelado dos tipos de mutantes resistentes a las quinolonas. Las mutaciones de la clase I causan resistencia de bajo nivel sólo a las quinolonas y se pueden localizar en los genes **gyr A** (**nfx A**, **ofx A**, etc.). Las mutaciones de clase II producen resistencia de bajo nivel tanto a las quinolonas como a fármacos estructuralmente no relacionados, como ejemplos podemos citar a **nfx B** y **cfx B**. La naturaleza pleiotrópica de esta resistencia generada en estos *loci*, sugiere una disminución de la permeabilidad de la membrana. Parece que esta posibilidad se ha confirmado, puesto que evaluaciones posteriores de estos dos *loci* han revelado una disminución de la unión de la norfloxacin radio-marcada y de la expresión de la proteína de membrana externa tipo **OmpF**. Estas proteínas de membrana externa

forman poros a través de los cuales, compuestos hidrófilos de bajo peso molecular, como ciertos agentes antimicrobianos, pasan hacia el espacio periplásmico. Estos descubrimientos están en consonancia con las observaciones de HIRAI y col. (1986), que vieron como las bacterias mutantes en **OmpF** muestran una resistencia de bajo nivel tanto para las quinolonas como para otros fármacos no relacionados estructuralmente.

HIRAI (1989) estudió los mecanismos de resistencia a las quinolonas que implican a la membrana externa bacteriana. Para este autor, la resistencia de *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* a la norfloxacin, es también debida a cambios en la DNA-girasa y en la permeabilidad de la membrana externa, considerando que las alteraciones en la subunidad A de la enzima y en la permeabilidad celular, son mecanismos comunes de resistencia a las quinolonas en las bacterias Gram negativas.

Otros *loci* de *Escherichia coli* relacionados con la permeabilidad de la membrana son **nor B** y **nor C**, seleccionados con norfloxacin. El **nor B** posee propiedades análogas al **cfx B**, mientras que el **nor C** parece causar hipersusceptibilidad a las quinolonas de tipo hidrofóbico y no solamente interfiere sobre la proteína **OmpF**, sino que además parece alterar los lipopolisácaridos de la membrana externa.

En otras especies bacterianas distintas a *Escherichia coli*, también se aprecian alteraciones de la DNA-girasa y disminución de la permeabilidad de la membrana como mecanismos de resistencia (SETLOM y col., 1985; INONE y col., 1987). Las alteraciones en la permeabilidad de la membrana externa parecen ser muy importantes ya que, este tipo de resistencias, diferente a las alteraciones en la DNA-girasa, proporcionan resistencias cruzadas a otros agentes microbianos no relacionados estructuralmente.

Así, se han encontrado mutantes resistentes a la norfloxacin en *Escherichia coli* KL-16 por carencia de **Omp F**, a través de una mutación espontánea. Estos descubrimientos coinciden con los de HOOPER y col. (1987) que asocian la disminución de la proteína **Omp F** con la presencia de mutantes resistentes a la norfloxacin y ciprofloxacina. Estos mutantes, carentes de la proteína **Omp F**, pueden ser obtenidos fácilmente por selección con diferentes antimicrobianos como β -lactámicos y son resistentes a que estos compuestos pasen a través del poro.

Los resultados de la disminución de la susceptibilidad a la norfloxacin y a otras quinolonas análogas, relacionada con la reducción de la cantidad de **Omp F**, sugiere que las quinolonas, al igual que los β -lactámicos, la tetraciclina y el cloranfenicol, penetran por la membrana externa de *Escherichia coli* K-12 a través del poro constituido por la **Omp F**. Este hecho enfatiza los descubrimientos previos de HIRAI y col. (1986), que señalan que las quinolonas pueden penetrar a través del poro **Omp F** pero no a través del poro **Omp C**.

También HIRAI (1986) había encontrado previamente que la permeabilidad de las células bacterianas a la norfloxacin y ciprofloxacina en *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* podría diferir con respecto a la del ácido nalidíxico. Estos resultados junto con los de INONE y col. (1987) y HOOPER y col. (1987), demuestran que los mecanismos de permeabilidad de la membrana externa a la norfloxacin en *Pseudomona aeruginosa*, así como en otras enterobacterias, podría diferir de los descritos para el ácido nalidíxico y ésta podría ser una de las razones que explicarían la resistencia cruzada incompleta entre las quinolonas.

HIRAI (1986), ha relacionado en sus estudios las alteraciones en la capa de lipopolisacáridos, con la permeabilidad de la membrana celular bacteriana a las quinolonas, indicando que las alteraciones mutagénicas a este nivel pueden actuar

como una barrera a la permeabilidad de las quinolonas hidrofóbicas, como el ácido nalidíxico, pero no para las hidrofílicas como la norfloxacin y la ciprofloxacina. Sus resultados también demuestran que las quinolonas con una relativamente baja hidrofobicidad, parecen pasar a través de los poros constituidos por **Omp F** mientras que, las quinolonas con una relativamente alta hidrofobicidad parecen atravesar tanto a través de los poros **Omp F** como de los de la doble capa de fosfolípidos.

En los análisis moleculares sobre la resistencia a las quinolonas en cepas aisladas clínicamente, se ha determinado que la mutación única de **Ser-83 a Trp** en el aminoácido 875 de la proteína girasa A, es suficiente para conferir resistencia bacteriana de alto nivel, mientras que las sutituciones **Asp-678 a Glu** y **Ala-828 a Ser** son cambios neutrales y no contribuyen a la resistencia fenotípica (YOSHIDA y col., 1988).

La subunidad B de la girasa bacteriana podría también participar y así YAMAGISHI y col. (1986) han mapeado y secuenciado dos mutaciones en el grupo carboxi-terminal de la proteína girasa B que confiere resistencia de bajo nivel a las quinolonas.

Es por tanto concebible dos puntos de unión o acoplamiento en el complejo simétrico A_2-B_2 que envolverían a ambas subunidades A-B, lo cual estaría en consonancia con la capacidad de las quinolonas de producir una única o doble ruptura en la cadena de DNA. Pudiéndose sugerir que las mutaciones en las proteínas girasa A o B, podrían interferir con la unión o acoplamiento de las quinolonas (SHEN y col., 1989). Sin embargo, no se sabe con certeza absoluta, cual de estos modelos que incluyen alteraciones conformacionales en el complejo girasa están implicados actualmente en las resistencias a las quinolonas.

Hasta el momento de la realización de este trabajo, no se ha puesto en

evidencia ningún plásmido codificador de resistencia a quinolonas y ninguna transferencia de resistencia plasmídica, con la excepción de los trabajos publicados por MUNSHI y col. (1987) y CRUMPLIN (1987). En cambio, la mayoría de los autores defienden la inhibición de la transferencia de plásmidos por acción de las quinolonas, ya que la actividad de la girasa bacteriana es necesaria para la replicación de los plásmidos y por tanto, se inhibirá la transferencia del factor R mediador de resistencia (BROGARD y col., 1987; HENWOOD y MONK, 1988; HOLMES y col., 1985).

Esta carencia de plásmidos resistentes a las quinolonas, puede ser atribuida a cuatro características de las quinolonas y de la resistencia a ellas (WOLFSON y HOOPER, 1989):

1ª.- Son necesarias las mutaciones en el gen **Gyr A**, que confiere resistencia a las quinolonas con respecto a los genes susceptibles de cepas salvajes.

2ª.- Las mutaciones en aquellos genes que producen disminución de las proteínas del poro de la membrana externa, retrasan la aparición del genotipo mutante hasta su introducción en las células de tipo salvaje.

3ª.- Las quinolonas son capaces de inhibir efectivamente la conjugación de plásmidos.

4ª.- Las quinolonas han demostrado su capacidad de eliminar ciertos plásmidos de bacterias en crecimiento.

Por estas razones, el desarrollo de resistencias por transferencia plasmídica,

esta probablemente retrasado en presencia de estos agentes.

Sin embargo, se ha obtenido un plásmido trasmisible en un cultivo de *Shigella dysenteriae* tipo I que parece proporcionar resistencia al ácido nalidíxico (MUNSHI y col., 1987). Pero CRUMPLIN (1987), señala en estudios moleculares sobre la resistencia mediada por plásmidos en el caso del ácido nalidíxico, que excepto en *Shigella dysenteriae*, la resistencia es altamente inestable. Por otra parte, es necesario tener en cuenta que el ácido nalidíxico no proporciona resistencia cruzada con las nuevas generaciones de quinolonas y además, la posibilidad de que el plásmido observado sea un plásmido mutante más que un plásmido transportador de un gen codificador de resistencia al ácido nalidíxico, no ha sido totalmente descartada.

En cuanto a la aparición de resistencias cruzadas entre las diferentes quinolonas, TENNEY y col. (1983) documentaron la rápida aparición de resistencias a la norfloxacin, la cinoxacin y al ácido nalidíxico por transferencia seriada en cultivos de agar que contenían concentraciones subinhibitorias de cada una de las tres quinolonas. Los cultivos resistentes, lo fueron a los tres fármacos, independientemente de la quinolona utilizada para la selección.

Posteriormente, se publicó la aparición de resistencias cruzadas completas entre ciprofloxacina, DJ-6783 y enoxacin, así como entre enoxacin, ácido nalidíxico, norfloxacin y ácido oxolínico (BARRY y JONES, 1984).

CHOW y col. (1989), en su trabajo sobre las resistencias cruzadas entre ciprofloxacina, β -lactámicos de amplio espectro y aminoglicósidos, establecen que la co-resistencia a la ciprofloxacina y a los aminoglicósidos se dio en el 1,8-4 % de los casos, al imipenem en el 3 % y a otros β -lactámicos de amplio espectro, en el 0,7-4 %, por lo que se puede considerar un hecho poco frecuente. Sin embargo, no

se pudo encontrar la multirresistencia que incluyera la ciprofloxacina, imipenem, ceftacidina y aminoglicósidos.

Son escasos los trabajos referidos a las resistencias a quinolonas sobre cepas aisladas en medicina veterinaria. CORBION y GLEDEL (1981) realizaron un estudio sobre la antibiorresistencia de 13000 cepas de salmonella de procedencia animal entre los años 1978 y 1980, utilizando la flumequina sobre 9129 cepas de salmonellas y apareciendo una única cepa resistente a este compuesto.

MARTEL y MOULIN (1982) estudiaron la resistencia *in vitro* de las principales enterobacterias patógenas en el ternero, sobre la base de que éstas manifiestan una fuerte tendencia a adquirir factores de resistencia a los principales antibióticos. En general, todas las cepas resultaron sensibles a la colistina y a los aminoglicósidos, mientras que, la frecuencia de presentación de resistencias fueron bajas en el caso de la asociación del trimetoprim-sulfametoxazol, ácido nalidíxico y flumequina. Todas las salmonellas estudiadas fueron sensibles a la acción de la flumequina, pero presentaban tasas de resistencias elevadas con otros antibióticos. Los colibacilos presentaban un mayor grado de resistencias que las salmonellas.

Se ha observado un incremento transitorio en la incidencia de resistencias a la flumequina entre los coliformes aislados a partir de las heces de pollos cuando esta quinolona era administrada en el agua de bebida, sin que en ninguna ocasión, las MIC del agente sobrepasaran. Confirmándose la resistencia cruzada entre el ácido nalidíxico y la flumequina con ampicilina, cloranfenicol, kanamicina, streptomycin, sulfadiazina, tetraciclina y trimetoprin (HINTON y LINTON 1985).

SEMJEN y WRIGHT (1991) estudiaron el desarrollo *in vitro* de resistencias al ácido nalidíxico y a la enrofloxacin en cultivos de *Escherichia coli* de origen porcino, basándose en que BARRY y JONES (1984), habían descrito con

anterioridad el rápido desarrollo de resistencias en presencia de ácido nalidíxico y cinoxacina. Los 15 cultivos de *Escherichia coli* investigados por SEMJEN y WRIGHT (1991) fueron resistentes a la tetraciclina y 11 a la neomicina, kanamicina, cloranfenicol y a las sulfamidas; sin embargo, los cultivos fueron sensibles al ácido nalidíxico y a la enrofloxacina.

Las medias de las MICs y sus incrementos durante los sucesivos pases indican que el ácido nalidíxico desarrolla resistencias más rápidamente que la enrofloxacina, coincidiendo con un aumento de la resistencia al ácido nalidíxico. Mientras que, los cultivos que desarrollan resistencias al nalidíxico pueden permanecer susceptibles a la enrofloxacina. Pudiéndose explicar la rápida presentación de resistencias para el nalidíxico, por la elevada frecuencia de resistencias espontáneas por mutación para este fármaco.

Sin embargo, como señalan estos autores, los resultados *in vitro* no nos permiten sacar conclusiones de relevancia sobre el verdadero comportamiento de estos compuestos en la terapéutica veterinaria.

II.1.7.- INTERACCIONES

Son numerosos los mecanismos de interacción entre los agentes antimicrobianos y otros fármacos, especialmente tras la administración oral. Después de que la administración tenga lugar, se pueden dar en el organismo interacciones tanto físicas como químicas. Las interacciones de significación clínica pueden ser debidas, entre otros procesos, a alteraciones en la unión de proteínas plasmáticas de ciertos fármacos con agentes antimicrobianos, así como al aumento o disminución interactiva del metabolismo hepático o de la excreción renal.

Recientemente, se han descrito múltiples interacciones entre las quinolonas y otros compuestos (LODE, 1988) y se han publicado estudios detallados sobre la influencia de las variaciones del pH en la actividad antibacteriana de las quinolonas. Así, SMITH y RATCLIFFE (1986) investigaron la actividad de varias quinolonas contra *Escherichia coli* KL 16 a cuatro valores diferentes de pH entre 5,6 y 8,3, los cuales cubren el rango de pH urinarios, encontrando que el grado de alteración de la actividad antimicrobiana en relación con los cambios de pH del medio están determinados por la naturaleza del sustituyente en el C-7, siendo la actividad progresivamente menor con la caída de valores del pH, mientras que los compuestos carentes del anillo piperazínico presentan un incremento en su actividad cuando el pH disminuye.

En general, son muchos los autores que describen la interacción entre quinolonas y ciertos cationes así, STAHLMANN y LODE (1988) señalan la interacción dosis-dependiente entre las fluoroquinolonas y los cationes aluminio y magnesio presentes en los antiácidos cuando son administrados simultáneamente por vía oral. La razón de estos efectos es probablemente, la formación de complejos quelantes entre las quinolonas y los iones metálicos, que alteran las características de absorción de éstas. Siendo aceptado que la absorción de las quinolonas es

marcadamente reducida por antiácidos, carbonato cálcico, sulfato y fumarato férricos, etc. (JANKNEGTT,1990). Este hecho se ha descrito para la norfloxacin (MACHKA y BRANENY, 1984).

También se ha estudiado la influencia de la coadministración de fármacos capaces de alterar la motilidad gástrica y su influencia sobre la farmacocinética de la ciprofloxacina y ofloxacina. Así, la escopolamina y en general los fármacos antimuscarínicos son capaces de retrasar el vaciado gástrico prolongan el t_{max} , pero no alteran la AUC o la recuperación urinaria de estas quinolonas. Por otra parte, la absorción de la ciprofloxacina era acelerada cuando se administraba metoclopramida inmediatamente antes de la administración de la quinolona (WINGENDER y col., 1986).

Sin embargo, la administración concomitante de bloqueantes de receptores histamínicos H_2 (ranitidina y cimetidina) capaces de reducir la acidez gástrica, no parece tener un efecto significativo sobre la absorción de la ciprofloxacina ni sobre C_{max} , ni t_{max} , ni AUC (HÖFFKEN y col., 1986), aun cuando está descrito que la cimetidina es capaz de reducir el aclaramiento metabólico de la pefloxacina (JANKNEGTT,1990).

En cuanto a las interacciones que se pueden producir entre las quinolonas y otros agentes antimicrobianos, se han estudiado los antagonismos entre éstos y el cloranfenicol y la rifampicina (SMITH y LEVIN ,1988, VANCUTSEM y col., 1990). Puesto que las quinolonas necesitan la síntesis de proteínas y de RNA para desarrollar una actividad bactericida completa, no es sorprendente que inhibidores de la síntesis proteica como el cloranfenicol, las tetraciclinas, la eritromicina y la clindamicina, e inhibidores de la síntesis de RNA como la rifampicina sean capaces de antagonizar la actividad bactericida de las quinolonas a concentraciones subinhibitorias. En cambio, la fleroxacin, a diferencia de otras quinolonas, sólo

produce fenómenos de antagonismo con la rifampicina en el 1 % de los casos (ZHANG y NEN, 1991).

Por el contrario, se ha señalado la capacidad de los aminoglicósidos de incrementar la actividad bactericida de las quinolonas (TANAKA, 1982; CHOW y col., 1989). Así, la estreptomina es capaz de incrementar la actividad bactericida del ácido nalidíxico y de la ciprofloxacina.

Este hecho puede ser debido a que a diferencia de otros inhibidores de la síntesis proteica, los aminoglicósidos son capaces de alterar la membrana bacteriana y de incrementar la permeabilidad de ésta con lo que podría aumentar la asimilación de la quinolona o bien, alternativamente, debido a que tanto aminoglicósidos como quinolonas son capaces de afectar la replicación del DNA, interaccionando por esta vía (TANAKA, 1982).

Para VANCUTSEM y col. (1990), la disminución en el porcentaje de muerte bacteriana debido a la administración concomitante de fluoroquinolonas con inhibidores de la síntesis proteica, puede ser probablemente atribuida a la inhibición de la síntesis de exonucleasas.

Aunque los efectos sinérgicos entre los aminoglicósidos y la ciprofloxacina han sido demostrados *in vitro* los resultados *in vivo* son menos claros (CHALKLY y KOORNHOF, 1985). Así, la combinación de la amikacina y la ciprofloxacina ha resultado ser particularmente eficaz en el tratamiento de pacientes inmunosuprimidos, mientras que la de gentamicina y ciprofloxacina no fueron más eficaces que la ciprofloxacina por sí misma en el tratamiento de infecciones musculares por *Escherichia coli* en ratón neutropénico (HALLER, 1985).

En cuanto a los inhibidores de la síntesis de la pared celular, concentraciones

subinhibitorias de vancomicina no parecen tener efecto sobre la actividad bactericida del ácido nalidíxico o de la ciprofloxacina contra *Escherichia coli* KL16, al igual que otros β -lactámicos probados (TANAKA, 1982).

Recientemente se ha estudiado la actividad *in vitro* e *in vivo* de algunos antifúngicos en combinación con fleroxacina contra *Candida albicans*. En general, la fleroxacina no antagoniza la actividad *in vitro* de la anfotericina B, pero sin embargo, tiene un efecto sinérgico con el ketoconazol, que no es observado con el itroconazol y otros derivados imidazólicos, si bien estos efectos muy probablemente no son relevantes para el uso clínico de la combinación de fleroxacina con fármacos antifúngicos (POLAK, 1990; BOECKH y col., 1990).

Numerosos autores han descrito las interacciones que se producen entre las quinolonas y las metil-xantinas; estas parecen deberse a una disminución del aclaramiento hepático de las metil-xantinas, pues no se modifica la unión a proteínas plasmáticas ni el aclaramiento renal, y se produce en mayor o menor grado según la quinolona testada.

Este hecho fue descrito para la teofilina y la enoxacina al evidenciarse que la semivida de eliminación de la teofilina se había prolongado cerca de 20 horas (MAESEN y col., 1984; WIJNANDS y col., 1984). Posteriormente, se estudió este tipo de interacciones entre la teofilina, la pefloxacina y la ciprofloxacina, siendo menor la intensidad de la interacción en el caso de la enoxacina (WIJNANDS y col., 1986).

En un intento de determinar el posible mecanismo molecular de esta interacción, HASEGAWA y col. (1990), observaron una correlación entre el grado de interacción y la recuperación urinaria del metabolito "4-oxo", asumiendo que este metabolito del anillo piperazínico, el cual se forma en diferente grado según la

quinolona estudiada, competiría con la teofilina por las enzimas hepáticas y sería el responsable de la interacción con el aclaramiento de la teofilina. Sin embargo, según estos autores, los mecanismos de disminución en el aclaramiento de la teofilina inducidos por la enoxacina pueden no ser debidos a su metabolito 4-oxo-enoxacina sino a la enoxacina por si misma, ya que esta quinolona no es capaz de inhibir los procesos de eliminación por N-demetilación dependientes del citocromo P-450.

También se han descrito interacciones entre las quinolonas y la cafeína. Todas las quinolonas estudiadas, ofloxacina, lomefloxacina, ácido pipemidínico, ciprofloxacina y enoxacina, fueron capaces de inhibir competitivamente la actividad de la 3-demetilación, vía más importante de metabolización de las metil-xantinas. Siendo la enoxacina, la ciprofloxacina y el ácido pipemidínico los inhibidores más potentes, mientras que la lomefloxacina y la ofloxacina, tenían efectos moderados (STILLE y col., 1987; FUHR y col., 1990).

Se ha estudiado el grado de interferencia con la vía de la 7-demetilación de la cafeína (que representa el 25 % de la demetilación total) y con la 8-oxidación a 1,3,7-ácido trimetilúrico, observándose que estas vías estaban poco afectadas por las quinolonas. Estos datos indican que la reducción en el aclaramiento de la cafeína con la administración concomitante de quinolonas observada *in vivo*, es primordialmente debida a la inhibición competitiva a nivel de las isoenzimas del citocromo P-450 encargadas de la demetilación de la cafeína (FUHR y col., 1990).

También se han estudiado los efectos de la coadministración de analgésicos no esteroides y fluoroquinolonas sobre el metabolismo. Así, el aclaramiento total plasmático de la antipirina disminuye cuando es administrada con la ciprofloxacina, la enrofloxacina y la norfloxacina; lo que sugiere la capacidad de estas quinolonas de inhibir el metabolismo oxidativo de la antipirina (ANADON y col., 1990c; MARTINEZ-LARRAÑAGA y col., 1993)

Se ha observado una alta incidencia de convulsiones en pacientes que recibían la combinación de enoxacina y fembufen, poniéndose de manifiesto un efecto sinérgico inhibitorio entre las fluoroquinolonas y ciertos antiinflamatorios no esteroides sobre la base de la unión al receptor gabaérgico. Aun cuando la relevancia de esta interacción no es probablemente grande, a excepción del fembufen, no se puede descartar el posible efecto epileptogénico de este tipo de combinaciones (JANKNEG, 1990).

II.1.8.- EFECTO POST-ANTIBIOTICO

La persistencia en la supresión del crecimiento bacteriano tras una exposición limitada a un agente antimicrobiano fue observada en la década de los 40, comprobándose que el crecimiento de cocos Gram positivos era inhibido después de una exposición limitada de estos microorganismos a la penicilina.

Este efecto, denominado post-antibiótico (PAE) adquiere una renovada importancia en las últimas décadas, encontrándose este tipo de efecto en muchos de los nuevos antimicrobianos, y no solamente para los bacterias Gram positivas sino también para las Gram negativas. En general, este efecto parece ser mayor para los antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas que para los que inhiben la pared bacteriana. Aún cuando el mecanismo por el que se produce no se conoce bien en la actualidad, en el caso de la eritromicina, las tetraciclinas o el cloranfenicol se ha sugerido que *podría reflejar el tiempo requerido para que el fármaco se libere de su unión al ribosoma y difunda al espacio extracelular*. En el caso de los β -lactámicos que se unen a proteínas, muchos de los cuales son enzimas que intervienen en la síntesis de la pared bacteriana, el PAE podría reflejar el tiempo requerido por la bacteria para sintetizar nuevas enzimas (MEDIÁVILLA y FLOREZ, 1992).

Este conocimiento de la actividad antimicrobiana en función del tiempo proporciona una información de capital importancia para el establecimiento, junto con otras consideraciones farmacocinéticas, de los regímenes posológicos de un determinado fármaco sobre un determinado patógeno.

Las quinolonas son compuestos capaces de producir efecto post-antibiótico, tanto frente a bacterias Gram positivas como Gram negativas (VOGELMAN y CRAIG, 1986). INGERMAY y col. (1986), en su estudio sobre la importancia de

la farmacodinamia en la determinación de los intervalos de dosificación, estudian la eficacia de la ciprofloxacina, de un β -lactámico de nueva síntesis y de la ceftacidina, correlacionando los niveles de antibióticos resultantes en sangre con el desarrollo bacteriano en cada caso.

Estos autores, demostraban que los β -lactámicos producían una lenta acción bactericida y no poseían efecto post-antibiótico contra *Pseudomona aeruginosa* tanto *in vivo* como *in vitro*. Indicando que los β -lactámicos, como consecuencia deben ser administrados en dosis múltiples y a intervalos relativamente cortos, de tal forma, que la concentración del antibiótico esté siempre por encima de la MBC para el patógeno. Mientras que la ciprofloxacina, conseguía una pronta y rápida acción bactericida, así como un prolongado efecto post-antibiotico tanto *in vivo* como *in vitro*, lo cual hacía posible el empleo de esta quinolona en pequeñas dosis y a unos intervalos relativamente prolongados.

En general, la capacidad de la ciprofloxacina para producir PAE sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas varía con la especie bacteriana, con la concentración de ciprofloxacina utilizada y con el tiempo de exposición. Según los resultados de CHIN y NEU (1987), la ciprofloxacina produce un excelente efecto post-antibiótico en la mayoría de las bacterias Gram negativas y en *Staphilococcus aureus*, pero no sobre *Streptococcus faecalis*, debiéndose adecuar los intervalos de dosificación a este hecho. Estos resultados fueron confirmados por FUURSTED y col. (1987a,b) con la ciprofloxacina sobre *Pseudomona aeruginosa* y *Staphilococcus aureus*.

En cuanto a la norfloxacina, RENNEBERG y WALDER (1989) estudiaron los efectos post-antibióticos del imipenem, norfloxacina y amikacina tanto *in vivo* como *in vitro* contra *Staphilococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*. Los tres fármacos testados producían efecto post-

antibiótico de 1,1 a 3,8 h *in vitro* y de 1,4 a 4,3 h *in vivo* contra estas bacterias.

Los PAE poseían una duración significativamente más larga *in vivo* que *in vitro*, sin embargo, en el caso del imipenem sobre *Staphylococcus aureus* era más largo *in vitro*. Sus resultados indican que la capacidad de estos fármacos de producir efectos post-antibiótico podría permitir una administración intermitente sin pérdida de eficacia y que el PAE puede ser inducido sólo si el nivel de antibiótico excede la MIC de cada patógeno en particular, durante al menos algunos minutos. Por ejemplo, la norfloxacin ha de mantenerse durante al menos 18 min por encima de la MIC para presentar el efecto post-antibiótico contra *Streptococcus faecalis*; mientras que el imipenem ha de permanecer 78 minutos para producirlo sobre *Streptococcus faecalis*. Sin embargo, para estos autores son necesarios estudios adicionales, ya que factores como el incremento leucocitario post-antibiótico y otros hechos que influyen en la respuesta inmunológica a la infección, podrían interferir en la duración del efecto post-antibiótico.

II.1.9.- EFECTOS ADVERSOS (TOXICIDAD)

La mayoría de las fluoroquinolonas poseen una similar toxicidad e incidencia de reacciones adversas que generalmente son limitadas y raramente requieren la supresión del tratamiento.

Comparadas con otros agentes antimicrobianos, las quinolonas son consideradas como agentes relativamente inócuos (KELLER, 1991). Los efectos adversos descritos más frecuentemente tras la administración de quinolonas, se presentan en el tracto gastrointestinal, donde entre el 0,8-6,8 % de las personas tratadas experimentan náuseas, vómitos, dispepsia, dolor abdominal epigástrico, anorexia, diarrea y flatulencia. Con menor incidencia (0,9-1,8 %) las quinolonas producen efectos adversos a nivel del sistema nervioso central que incluyen dolor de cabeza, vértigos, cansancio, insomnio, desmayos, nerviosismo, etc., e incluso reacciones de mayor severidad como alucinaciones, depresión, reacciones psicóticas y raramente convulsiones, si bien, su presentación es infrecuente (<0,05 %). Las reacciones cutáneas y alérgicas son los terceros efectos adversos más comunes que se pueden presentar (0,6-2,4 %) e incluyen eritema, urticaria, prurito, erupciones cutáneas y reacciones de sensibilización después de la exposición a la luz solar (NORRIS y MANDELL, 1988; SIPORIN, 1989; NEU, 1987b).

La enoxacina se presenta, sin embargo, como una excepción dentro de las fluoroquinolonas, ya que se han descrito efectos adversos severos durante las experiencias clínicas con presentación de crisis epileptiformes, alucinaciones, sensación de despersonalización, náuseas severas con o sin vómitos así como, erupciones y ronchas cutáneas en una alta proporción de los pacientes tratados (39 %)(NORRIS y MANDELL, 1988; SIPORIN, 1989).

Puesto que las quinolonas como norfloxacin y ciprofloxacina son sólo

moderadamente solubles a pH neutros y alcalinos, su administración puede inducir nefrotoxicidad debido a la cristalización de estos compuestos en los túbulos renales. La administración prolongada de ciprofloxacina en animales de laboratorio, ha dado lugar a reacciones nefrotóxicas, encontrándose cristales en el sedimento urinario y a nivel del túbulo distal. El análisis de este material demuestra que las estructuras cristalinas encontradas, están constituidas por la quinolona o sus metabolitos, magnesio y proteínas. En las especies animales cuya orina sea alcalina, este hecho puede revestir una particular importancia (SCHLÜTER, 1986).

Algunos animales con cristaluria, pueden desarrollar subsecuentemente nefropatías obstructivas, pero las dosis que producen nefropatía exceden uniformemente las dosis asociadas a cristaluria (ARCIENI y col., 1987).

La producción de artropatías en animales jóvenes es una forma de toxicidad observada con todas las quinolonas testadas hasta la actualidad, sin embargo, este potencial tóxico no comporta una importante restricción en el uso de las quinolonas en adultos, por tanto, las quinolonas están contraindicadas en individuos jóvenes y adolescentes en fase de crecimiento, durante el embarazo y durante la lactación (STAHLMANN y LODE, 1988).

INGHAM y col. (1977). fueron los primeros en observar anormalidades articulares tras la administración de los ácidos nalidíxico, oxolínico y pipemidínico durante 15 días a perros en crecimiento. Las autopsias revelaron que las lesiones estaban circunscritas a las articulaciones mayores y se caracterizaban por la presencia de vesículas y erosiones en el cartílago articular que progresaban a lesiones de tipo ulcerativo.

Los resultados en la tolerancia de la enrofloxacin y el ácido pipemidínico han demostrado daños sobre los cartílagos en perros en crecimiento y después de la administración de la ofloxacin en ratas (VANCUTSEM y col., 1990). En un

estudio comparativo sobre la capacidad de inducir artropatías por el ácido nalidíxico y la norfloxacin (CORRADO y col., 1987), ambas quinolonas dieron lugar a artropatía asociada a cojera en perros de 5 meses de edad, mientras que en los conejos en crecimiento, sólo se desarrollaba la artropatía sin la presentación de cojera.

En un estudio toxicocinético sobre la capacidad de la norfloxacin de inducir artropatía en animales jóvenes, MACHIDA y col. (1990), determinaron que las concentraciones plasmáticas de norfloxacin capaces de inducir artropatía son más bajas que las dosis correspondientes de ácido nalidíxico en ratas, conejos y perros, sin embargo las concentraciones de ambas quinolonas en los cartílagos articulares de estos animales, fueron similares a las dosis artropáticas mínimas, lo que sugiere una potencia intrínseca de producción de artropatía, similar para ambas quinolonas.

Los cambios histológicos e histoquímicos encontrados en los cartílagos articulares, incluyen formación de vesículas con pérdida de proteoglicanos, alteraciones estructurales en el colágeno, y degeneración y necrosis de condrocitos, pudiendo presentarse a los dos días de comenzado el tratamiento en el caso de la difloxacin (BURKHARDT y col., 1990).

Sin embargo, la patogénesis de esta artropatía no inflamatoria inducida por las quinolonas es desconocida, si bien, con la suspensión del tratamiento, los signos de recuperación del proceso son evidentes entre las 3-4 semanas, pero las erosiones que se desarrollan secundariamente a las vesículas permanecen en el cartílago articular aún cuando la cojera pueda resolverse (SPECHT y col., 1991). Las observaciones sobre los procesos regenerativos del cartílago en perros después de la administración de ácido oxolínico, demuestran la existencia de estos procesos, pero no demuestran la completa reparación del cartílago; sin embargo, en el gato no se han observado lesiones posteriores a la administración de ácido oxolínico durante 2 semanas en animales de 8-10 semanas de edad (VANCUTSEM y col., 1990).

Se han testado también, en el caso de la pefloxacina y enoxacina alteraciones en la espermatogénesis en ratas y perros e incluso atrofia testicular después de tratamientos prolongados con estas quinolonas (STAHLMANN y LODE, 1988).

En estudios de teratogenicidad realizados con norfloxacin en ratón, rata y conejo, no se ha demostrado una relación entre esta quinolona y la presencia de malformaciones externas, viscerales o esqueléticas. En los monos, la norfloxacin ha demostrado producir pérdida de embriones a dosis 10 veces superiores a las normalmente administradas en el hombre; aún cuando en las especies estudiadas (rata, conejo, ratón, mono) no hay evidencia de efectos teratogénicos (CORRADO y col., 1987), de igual forma, la ofloxacin administrada a altas dosis a conejos y ratas preñadas durante la embriogénesis, no parece tener efectos teratogénicos (VANCUTSEM y col., 1990).

En las especies domésticas, los efectos adversos descritos para las quinolonas en otras especies y en el hombre, son equiparables, siendo, los tejidos diana los cartílagos juveniles, el sistema nervioso central, el tracto digestivo y el tracto urinario. No ha sido observada toxicidad nerviosa en la mayoría de las especies durante los test realizados con fluoroquinolonas, si bien, se ha observado la presentación de mareos en perros epilépticos tratados con fenobarbital a los que se administró enrofloxacin (VANCUTSEM y col., 1990). Los datos encontrados sobre tejidos de rata, sugieren que las fluoroquinolonas compiten con el receptor gabérgico en el SNC, los cuales están relacionados con los mecanismos inhibitorios endógenos. Son necesarios estudios más amplios o adicionales antes de asegurar categóricamente que la inhibición gabérgica es la causa de la neurotoxicidad de las fluoroquinolonas (VANCUTSEM y col., 1990), ya que experimentalmente se ha demostrado en animales de laboratorio que la neurotoxicidad atribuida a las fluoroquinolonas se producía por activación de receptores de aminoácidos excitatorios, posiblemente localizados en la región óptica del SNC y no a través de la interacción con receptores inhibitorios gabérgicos como se había sugerido (SUMANO, 1993).

Algunas quinolonas como la pefloxacin, rosoxacin y ácido nalidíxico pueden dar lugar a daños oculares, incluyendo cataratas subcapsulares y cambios en la morfología de la retina, sin embargo, en los limitados estudios que se han realizado, la norfloxacin y la ciprofloxacina no parecen producir este tipo de alteraciones oftalmológicas (NORRIS y MANDELL, 1988); aún cuando se ha informado sobre la capacidad de la norfloxacin de producir lesiones oftálmicas a nivel de la retina en el gato (CORRADO y col., 1987).

II.1.10.- USOS CLINICOS

En la actualidad, las fluoroquinolonas son utilizadas para el tratamiento de infecciones del tracto urinario, diarreas infecciosas, infecciones del tracto respiratorio inferior y de las estructuras dérmicas, óseas y articulares. Su amplio espectro de actividad y sus favorables perfiles farmacocinéticos están expandiendo su uso al tratamiento de una amplia variedad de infecciones sistémicas.

II.1.10.1.- INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO

Para el tratamiento de las infecciones urinarias no complicadas y agudas, las quinolonas no poseen grandes ventajas con respecto a otras alternativas menos caras, sin embargo, la presentación de resistencias bacterianas a las combinaciones de ampicilina-amoxicilina y trimetoprim-sulfametoxazol está empezando a ser cada día más frecuente en la práctica clínica y así las fluoroquinolonas podrían ser una alternativa en el tratamiento de infecciones urinarias causadas por organismos resistentes a otras combinaciones terapéuticas (ANDRIOLE, 1988).

La excelente actividad de las fluoroquinolonas contra la gran mayoría de los patógenos urinarios, así como las altas concentraciones urinarias conseguidas tras la administración oral, hacen de estos fármacos firmes candidatos para el tratamiento de las infecciones del tracto urinario dada su capacidad de inhibir las *Enterobacteriaceae* y *Pseudomona aeruginosa*, incluyendo cepas resistentes a los β -lactámicos, aminoglicósidos y cotrimoxazol (NEU, 1987b).

En general, las fluoroquinolonas, se consideran agentes ideales para el tratamiento de infecciones del tracto urinario superior, tanto agudas como crónicas o nosocomiales, complicadas o simples, para la pielonefritis y en general para todas aquellas causadas por bacterias antibiótico-resistentes (NEU, 1987b).

II.1.10.2.- ENFERMEDADES DE TRANSMISION SEXUAL

Administrada en una dosis única, la norfloxacin ha demostrado ser efectiva para el tratamiento de las gonorreas, incluidos casos originados por gonococos productores de penicilasas (CRIDER y col., 1984). La ciprofloxacina fue significativamente menos efectiva que la doxiciclina en pacientes con uretritis por clamidias (FONG y col., 1987). Las quinolonas son una excelente alternativa al cotrimoxazol para el tratamiento del chancro producido por *H. ducreyi* (NEU, 1987b).

II.1.10.3.- INFECCIONES GASTROINTESTINALES

La mayor parte de patógenos bacterianos causantes de diarrea, son inhibidos por las quinolonas a concentraciones menores de 1 µg/ml, incluyendo *Shigella spp.*, *Escherichia coli* enterotoxigénico, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Aeromona spp.* y *Vibrio spp.*.

Gracias a las altas concentraciones que alcanzan en el lumen intestinal, en los macrófagos y en mucosa, las fluoroquinolonas son capaces de erradicar las bacterias patógenas intestinales en 48 h de iniciada la terapia (NEU, 1987b).

Las acciones de las quinolonas sobre la microflora gastrointestinal han sido ampliamente documentadas en el hombre, así, la administración oral es capaz de eliminar la mayor parte de la flora aerobia Gram negativa, los efectos sobre la flora Gram positiva son escasos y no existen alteraciones sobre la microflora anaerobia (ANDRIOLE, 1988).

Las fluoroquinolonas han demostrado ser eficaces en el tratamiento de diarreas bacterianas y del viajero, con una actividad comparable a las asociaciones de trimetoprim-sulfametoxazol, y tener una tasa de curación superior al 90 %.

aunque, el uso de las fluoroquinolonas debería estar reservado a pacientes con hipersensibilidad a estas asociaciones o cuando se presenten resistencias (ERICSSON y col., 1987).

La norfloxacin y la ciprofloxacina son efectivas en el tratamiento de las fiebres tifoideas y paratifoideas aún cuando la experiencia clínica no es muy extensa. Su utilización en los procesos de salmonelosis ha sido ampliamente documentado, incluyendo los casos de portadores crónicos y en los casos de gastritis antral asociada a *Campylobacter pylori*.

II.1.10.4.- INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO

Las fluoroquinolonas poseen una excelente actividad *in vitro* contra la mayoría de los más importantes patógenos productores de infecciones respiratorias y han sido utilizadas con éxito en pacientes con infecciones del tracto respiratorio inferior, fundamentalmente en casos de bronquitis agudas y purulentas o de neumonías. Su actividad es comparable a la de las asociaciones trimetoprim-sulfametoxazol y superior a la de las cefalosporinas orales disponibles. La baja actividad contra los neumococos podría limitar su uso en infecciones producidas por bacterias Gram negativas (ANDRIOLE, 1988) y siempre que haya sospecha de diplococos Gram positivos, los β -lactámicos resultarán una mejor elección.

Las neumonías por aspiración son debidas generalmente a la flora anaerobia y microaerofílica, contra las que las quinolonas poseen una pobre actividad, mientras que para aquellas producidas por bacterias aerobias Gram negativas, de alta morbilidad y mortalidad, las quinolonas podrían ser la terapia de elección inicial (NEU, 1987b).

Dentro de las otitis, la externa necrosante debida a *Pseudomona aeruginosa*

es la más susceptible de ser tratada por las quinolonas, mientras que estas no serían agentes de primera elección en el tratamiento de la sinusitis, puesto que los neumococos y los *streptococos anaerobios* suelen estar presentes. La ciprofloxacina se ha utilizado como alternativa a la terapia convencional en pacientes con fibrosis quística, siendo esta efectiva en más del 80 % de los casos y comparable a la terapia convencional con la combinación de un aminoglicósido y una penicilina antipseudomonal (SCULLY y col., 1987).

II.1.10.5.- INFECCIONES DE LA PIEL Y DE LOS TEJIDOS

BLANDOS

Celulitis, abscesos subcutáneos, piodermas y úlceras infectadas son tipos comunes de infecciones que se encuentran en la práctica clínica, en general, están causadas por estafilococos y estreptococos, por lo que los β -lactámicos o los macrólidos serán preferibles a las quinolonas (NEU, 1987b); sin embargo, la presencia de bacterias aerobias Gram negativas es un hecho frecuente en pacientes con úlceras en la piel, particularmente en aquellos con *diabetes mellitus*, para estos pacientes la administración oral de ciprofloxacina es comparable, e incluso más efectiva que la terapia parenteral con β -lactámicos o aminoglicósidos e imipenem (ERON, 1987).

Aunque para el tratamiento de piodermas por estreptococos y de infecciones estafilocócicas en la piel en general los β -lactámicos serán los agentes de elección (ANDRIOLE, 1988), la ofloxacina y la ciprofloxacina han demostrado ser buenas alternativas para las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*, meticilín-resistentes (NEU, 1987b).

II.1.10.6.- OSTEOMIELITIS

El amplio espectro de actividad, la capacidad de penetración en el hueso, la relativa inocuidad y la poca capacidad de producir resistencias en tratamiento prolongados, hacen de las fluoroquinolonas fármacos de utilidad en las osteomielitis.

Así, las quinolonas han resultado ser útiles en la mayoría de las osteomielitis estafilocócicas, aún cuando los β -lactámicos son los agentes de elección siempre que no existan microorganismos meticilín-resistentes. Por el contrario, debido a la pobre actividad de las quinolonas sobre los anaerobios, las osteomielitis mixtas (aeróbicas-anaeróbicas), deberían ser tratadas con agentes de marcada actividad anaerobia como el metronidazol o la clindamicina (ANDRIOLE, 1988).

La cripofloxacina ha resultado ser particularmente efectiva en osteomielitis por *Staphylococcus aureus* meticilín-resistente, *Staphylococcus epidermidis*, así como las producidas por *Serratia spp.* y *Pseudomona aeruginosa* (NEU, 1987a).

II.1.10.7.- INFECCIONES QUIRURGICAS Y POST-OPERATORIAS

Las quinolonas ofrecen una interesante alternativa en infecciones debidas a *Enterobacteriaceae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus spp.* sobre todo en el caso de organismos resistentes a β -lactámicos y aminoglicósidos. La ciprofloxacina por vía intravenosa seguida de subsecuentes administraciones orales, ha resultado ser muy útil en estos casos (NEU, 1987a).

II.1.10.8.- INFECCIONES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

La penetración de las fluoroquinolonas en el líquido cefalo-raquídeo y en los tejidos cerebrales ha sido ampliamente documentada para la pefloxacina y la

ciprofloxacina, habiéndose establecido que ésta es mayor cuando existe meningitis (NORRBY, 1988). Aún así, debido a la poca experiencia clínica su uso es en cierto modo empírico y su utilización en infecciones del sistema nervioso central debería estar reservada a aquellos casos raros de pacientes con meningitis o ventriculitis causada por organismos aerobios Gram negativos multiresistentes (ANDRIOLE, 1988).

II.1.10.9.- OTROS USOS POTENCIALES

Las fluoroquinolonas han sido testadas para el tratamiento de la brucelosis debido a su probada capacidad de penetración en los macrófagos, sin embargo, son todavía necesarios estudios clínicos que demuestren su eficacia en ésta y otras infecciones intracelulares.

La capacidad de la ciprofloxacina y ofloxacina de inhibir *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium avium-intracellulare* proporciona un uso potencial en el tratamiento de infecciones por micobacterias, sobre todo, en aquellas producidas por microorganismos resistentes a otras quimioterapias; particularmente en enfermos de SIDA su empleo ha sido satisfactorio (NEU, 1987b; ANDRIOLE, 1988).

II.1.10.10.- USOS CLINICOS EN VETERINARIA

La presentación de resistencias a los agentes antimicrobianos actualmente disponibles, para su uso animal es un hecho cada vez más frecuente en la terapéutica veterinaria. Las fluoroquinolonas representan quizás el mayor avance en el tratamiento de infecciones bacterianas de los animales (VANCUTSEM y col., 1990).

En fechas recientes se ha iniciado el estudio del uso de las quinolonas en medicina veterinaria, en la década de los 80 el ácido nalidíxico resultó ser una revelación en la terapéutica veterinaria, encontrándose citas sobre su uso para

infecciones por *Escherichia coli* en aves y becerros y como antiséptico urinario en perros y gatos (BOOTH y McDONALD, 1982).

La enrofloxacin, ya sea profiláctica o terapéuticamente, ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de infecciones en aves por *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida*, *Salmonella arizonae* y *Mycobacterium gallisepticum* administrada durante 3-5 días, así como su total capacidad micoplásmica en broilers, pavos y gansos, limitando tanto la transmisión vertical como horizontal (VANCUTSEM y col., 1990; JORDAN y col., 1993a; STIPKOVITS, 1988). También la enrofloxacin ha sido utilizada con éxito para el tratamiento de las infecciones de incidencia en pájaros de jaula (FLAMMER, 1992) y en especies exóticas (DORRESTEIN, 1992).

La danofloxacin es más eficaz que la tilosina para el control de *Mycobacterium gallisepticum* en broilers (JORDAN y col., 1993b), existiendo datos de excelente eficacia de la ofloxacin para el tratamiento del coriza aviar producida por *Haemophilus paragallinarum* (SUMANO, 1993).

Las pruebas clínicas y experimentales han demostrado resultados positivos sobre las infecciones respiratorias, digestivas, genitourinarias y dérmicas de la enrofloxacin en perros y gatos (VANCUTSEM y col., 1990). Habiéndose obtenido resultados muy buenos para el tratamiento de la pioderma de los perros, otitis externa, heridas infectadas por *Klebsiella spp.* y en infecciones del aparato reproductor (BAUDITZ, 1987), así como en la pielonefritis bacteriana crónica del gato (OSBORNE, 1992).

En el caso de los cerdos, se ha demostrado la eficacia de las quinolonas en diferentes patologías. La enrofloxacin ha resultado ser eficaz en el control de las enterotoxemias producidas por coliformes, diarreas del destete y bronconeumonías por *Mycoplasma hyopneumoniae*. Tanto en su uso profiláctico como terapéutico, muestran eficacia en las salmonelosis, en el síndrome mastitis-metritis-agalactia

frecuentemente causada por *Escherichia coli* (SCHÖNING y PLONAIT, 1994), diarrea del lechón y enterotoxemias colibacilares de los lechones destetados y de los cerdos de engorde, pleuroneumonía, bronconeumonía y neumonía enzoótica (BAUDITZ, 1992; VANCUTSEM y col., 1990).

La norfloxacin y su 6-cloro análogo han demostrado ser especialmente útiles para el tratamiento de la neumonía enzoótica porcina, presentando una excepcional actividad micoplásmica contra el *Mycoplasma hyopneumoniae* (HANNAN, 1990) y la flumequina también ha dado muy buenos resultados en el tratamiento de la colibacilosis del cerdo (VALLISNERI y col., 1985).

Los estudios clínicos realizados en terneros con enrofloxacin, demuestran que es efectiva en las diarreas por coliformes, septicemia coliforme e infecciones del aparato respiratorio producidas por *Pseudomona haemolytica*, *Pasteurella multocida* y *Mycoplasma bovis*, siendo también susceptibles las salmonelosis latentes del ternero y no se produjeron resistencias en las salmonelas aisladas a partir de las heces de los terneros. En la mayoría de los casos, la flora intestinal no estaba alterada, si bien, se puede producir un incremento puntual en la población de blastomicetos (VANCUTSEM y col., 1990).

En la actualidad, las quinolonas están indicadas en los rumiantes para el control de las diarreas y septicemias colibacilares, así como en las diarreas de origen no bacteriano para evitar las infecciones bacterianas secundarias; también para las bronconeumonías como enfermedades primarias de origen bacteriano e infecciones bacterianas secundarias de los órganos respiratorios en enfermedades complejas como la neumonía enzoótica. Se ha comprobado su eficacia en el tratamiento de la mastitis por *Staphilococcus spp.* y *Escherichia coli*, de la agalactia infecciosa y de la mastitis gangrenosa por *Staphilococcus aureus* y *Clostridium perfringens* (BAUDITZ, 1992).

La norfloxacin a razón de 50 mg/kg ha resultado ser útil para el control de las colibacilosis de los terneros tras 2 días de administración, con una eficacia comparable a las asociaciones trimetoprim-sulfametoxazol (DUBEY y RAO, 1991) y de forma similar la danofloxacin presenta una mejor actividad al ser comparada con la oxitetraciclina contra la neumonía bacteriana aguda en terneros de engorde (GILES y col., 1991).

ESPINASSE y col. (1983), a partir de un modelo experimental de colibacilosis diarreica neonatal, testaron la actividad de la flumequina administrada durante 5 días, y la enrofloxacin ha demostrado ser una buena terapia para la fiebre del embarque en terneros de engorde (LEKEUX, 1988).

Puesto que se ha descrito, que las fluoroquinolonas son capaces de alcanzar concentraciones efectivas en la glándula mamaria (ZIV y col., 1990); su uso para el tratamiento de las mastitis y de la agalactia es una práctica habitual en los últimos años. Son una buena opción para el secado sistémico (SOBACK y col, 1990), habiéndose probado con eficacia para este fin la enrofloxacin, norfloxacin y danofloxacin. Considerándose en general, que las fluoroquinolonas son eficaces contra la mayoría de los patógenos de presentación más frecuente en las mastitis y más aún, se les ha ponderado como una de las opciones potenciales para el tratamiento de las mastitis crónicas, incluso para las producidas por *Staphilococcus spp.* de forma "L" intracelulares (SUMANO, 1993).

II.2.- FARMACOCINETICA

II.2.1.-INTRODUCCION

El ácido nalidíxico y en general las quinolonas de primera generación, no eran totalmente absorbidas y sufrían un rápido aclaramiento lo que limitaba su uso al tratamiento de infecciones del tracto urinario. A diferencia de estas, las fluoroquinolonas se van a caracterizar por una rápida absorción, una prolongada semivida biológica, una baja unión a proteínas plasmáticas, una eliminación por mecanismos renales y extrarenales, una limitada biotransformación y una buena biodisponibilidad tras la administración oral. Además alcanzan unas concentraciones séricas y tisulares superiores a las MICs de la mayoría de las bacterias Gram negativas y de algunas aerobias Gram positivas y semividas lo suficientemente largas para permitir la dosificación cada 12-24 horas (NORRIS y MANDELL, 1988).

Como apuntábamos al hablar de la relación estructura-actividad las sustituciones C-6 fluor y C-7 radical piperazínico mejoran la penetrabilidad de las quinolonas en los tejidos; presentando estas, volúmenes de distribución mayores que las anteriores quinolonas y una menor unión a las proteínas plasmáticas (NEUMAN, 1988).

VANCUTSEM y col. (1990) indican que la adición de grupos alquilo en la posición "para" del anillo piperazínico y sobre el nitrógeno en posición 1, incrementa la solubilidad lipídica y el volumen de distribución y que la sustitución de átomos de hidrógeno por átomos de fluor en la posición 8 del anillo y sobre el metilo del grupo alquilo, disminuye el nivel de degradación de estas moléculas y por tanto su tasa de eliminación.

También WOLFSON y HOOPER (1985) habían señalado que la sustitución de un grupo metilo en el anillo piperazínico incrementaba la biodisponibilidad oral de estas moléculas, aumentando las concentraciones plasmáticas máximas, el área bajo la curva y la semivida de la fase terminal, lo que se relacionaba con la liposolubilidad.

Sin embargo, según (SÖRGEL y col., 1989) no parece existir relación entre el volumen de distribución de las quinolonas y su estructura química.

II.2.2.-ABSORCION

La biodisponibilidad oral de las fluoroquinolonas se sitúa entre el 80-100 % (BERGAN, 1988b), siendo las más elevadas las de la ofloxacin y pefloxacin (96-100 %) y menores en el caso de ciprofloxacina (50-70 %) y norfloxacina (30-40 %) (BERGAN, 1988a; NEUMAN, 1988)

Sin embargo, es necesario tener en cuenta que muchas veces la biodisponibilidad esta claramente sobrestimada, puesto que al comparar las áreas bajo la curva de concentración sérica, algunos estudios están basados en la suma del compuesto inalterado y de todos sus metabolitos y de esta forma, una misma molécula puede estimarse antes y después de ser biotransformada. Este hecho adquiere gran importancia cuando el fármaco es extensamente metabolizado tras la administración oral, como la pefloxacin (BERGAN, 1988a).

Se ha sugerido un posible efecto de primer-paso para la ciprofloxacina, debido a que la cantidad del fármaco recuperado en orina despues de la administración oral fue aproximadamente la mitad de la obtenida tras la administración endovenosa (30 y 57 % respectivamente). Sin embargo, las cantidades de metabolitos recuperados fueron respectivamente del 42 y 30 %, por tanto, parece ser que este efecto de primer paso no reviste una gran importancia (BERGAN, 1988b).

Ya hemos señalado que las quinolonas se caracterizan por presentar una rápida absorción, obteniéndose las concentraciones plasmáticas máximas de 1-3 h después de la administración oral en el hombre (NORRIS y MANDEL, 1988). Este tiempo de consecución del pico plasmático (t_{max}) es independiente de la dosis administrada en la mayoría de las fluoroquinolonas, como es el caso de la ciprofloxacina, en la que el incremento de la dosis de 250 a 1000 mg no da lugar

a incrementos en los t_{\max} , situándose en todos los casos en torno a 1,5 h (TARTAGLIONE y col., 1986). Sin embargo, en el caso de la norfloxacin se ha descrito un comportamiento anómalo; así el t_{\max} de la norfloxacin se incrementa de 1 a 2 h cuando la dosis administrada pasa de 200 a 1600 mg (ROGERS, 1983).

En general, las quinolonas poseen farmacocinéticas lineales dosis-dependientes, con incrementos de las concentraciones séricas directamente proporcionales a las dosis y otras propiedades farmacocinéticas (semivida sérica, aclaramiento corporal total, etc...) independientes de la dosis (BERGAN, 1988). La norfloxacin en estudios realizados en el hombre, sólo presenta esta linealidad entre dosis de 200-800 mg, mientras que a dosis superiores a 800 mg los incrementos en los picos de concentración sérica y de la AUC plasmática no son lineales, retrasándose de igual forma el T_{\max} a dosis altas (SWANSON y col., 1983).

Se han encontrado también diferencias en cuanto al valor de C_{\max} entre las diferentes quinolonas. TARTAGLIONE y col. (1986) estudiaron la disposición de la ciprofloxacina tras el incremento secuencial de dosis orales, observando que los valores de C_{\max} y de AUC se incrementaban proporcionalmente con el incremento de la dosis. También, DUDLEY y col. (1987), reiteran este hecho en el caso de la ciprofloxacina, determinando que en un rango de dosis entre 100-200 mg las farmacocinéticas de estas quinolonas son lineales y existe dosis-dependencia, de igual forma también se ha comprobado que las C_{\max} de la pefloxacina y enoxacin aumentan de forma lineal al aumentar la dosis en un rango que cubría hasta 800 mg (BARRE y col., 1984).

En el caso de la norfloxacin y la ofloxacina no existe proporcionalidad entre la C_{\max} y la dosis administrada cuando el rango oscila entre 200-1600 mg (NEUMAN, 1988). Este hecho había ya sido señalado para la norfloxacin por ROGERS (1983) y SWANSON y col. (1983) indicando estos autores que la C_{\max} y la AUC sérica de 0 a 12 h, así como la recuperación urinaria de 0-12 h de

norfloxacin no metabolizada toman valores progresivamente más bajos cuando aumentan la cantidad de norfloxacin administrada en un rango de 200-1600 mg, lo que en principio sugería que la fracción de la dosis absorbida en las primeras 12 h era más baja en las dosis altas. Sin embargo, considerando un período de 48 h, el porcentaje de recuperación en orina no fué sustancialmente diferente para las distintas dosis (27.4-31 %) por lo que este hecho podría ser debido a un retraso en la absorción cuando se utilizan dosis altas.

En cuanto a la disminución de la biodisponibilidad oral de las fluoroquinolonas como consecuencia de la administración concomitante de cationes metálicos, ya ha sido descrito en el apartado correspondiente a interacciones, habiéndose atribuido esta acción a la quelación de los grupos carboxílicos por los cationes bivalentes. Por otro lado, la asociación de un grupo ácido (ácido carboxílico) y de un grupo básico (amina terciaria) en la molécula de las quinolonas, proporciona a estas un carácter anfótero que hace que su biodisponibilidad sea baja excepto en un rango de pH de 6-8 (VANCUTSEM y col., 1990).

II.2.3.-DISTRIBUCION

El grado de penetración tisular de un quimioterápico es uno de los factores determinantes más importantes para su utilización tanto terapéutica como profiláctica. Las quinolonas poseen una muy buena penetración en los fluidos corporales, su paso a los tejidos se produce por difusión pasiva a través de los poros capilares, si bien, han sido descritos mecanismos de transporte activo para estas sustancias circunscritos a los riñones y plexos coroideos (BERGAN, 1988b).

Los procesos de difusión pasiva de un fármaco vienen determinados por su solubilidad lipídica y su grado de ionización y de unión a proteínas plasmáticas. A diferencia del ácido nalidíxico, que poseía un porcentaje de unión a proteínas plasmáticas del 90 %, el grado de unión de las fluoroquinolonas es bajo, en general inferior al 30 % (VANCUTSEM y col., 1990), siendo en el caso de la norfloxacin del 14 % (SHIMADA y col.1983).

Por otro lado, el punto isoeléctrico de las fluoroquinolonas se sitúa en un rango entre 6.8 y 7.5 indicando que éstas están poco ionizadas en el plasma, mientras que en pH más altos o bajos que los séricos se pueden producir fenómenos de atrapamiento en tejidos o secreciones debido a la ionización de las moléculas (DALHOFF, 1989).

Las características fisico-químicas de las principales fluoroquinolonas figura en la Tabla II.3, comprobándose que el bajo peso molecular de las quinolonas, así como, el carácter anfótero de las moléculas facilitan la penetración tisular de éstas.

Todas las fluoroquinolonas se caracterizan por una extensa distribución en los fluidos corporales y los tejidos, lo que se evidencia por volúmenes de distribución superiores a 1,5 l/Kg en el hombre. Las concentraciones en pulmón, vesícula biliar

y tejidos renales y uterinos son superiores en las concentraciones plasmáticas, mientras que generalmente las concentraciones en el humor acuoso, tejidos linfáticos, huesos, saliva y líquido céfalo-raquídeo son más bajos que los correspondientes niveles séricos (SIPORIN, 1989).

En el caso de la ciprofloxacina, se han determinado concentraciones más elevadas que las plasmáticas en hígado, riñones, páncreas, bazo, glándula prostática, testículos, musculatura esquelética, piel y cartílagos, mientras que las concentraciones determinadas en el cerebro y grasa renal fueron más bajas (SIEFERT y col., 1986).

MATSUMOTO (1985), estudió las concentraciones de ciprofloxacina y de norfloxacina en tejidos renales y hepáticos, estimando que estas son de 5 a 10 veces superiores que la sérica y atribuyendo estas altas concentraciones a que estos órganos son los principales encargados de la eliminación de las quinolonas.

El cálculo de los coeficientes de distribución en los diferentes tejidos ginecológicos, muestran que las concentraciones en los tejidos examinados exceden las correspondientes concentraciones séricas en el caso de la ciprofloxacina, pero son semejantes en el caso de la ofloxacina, norfloxacina, pefloxacina y enrofloxacina. Las semividas de eliminación a partir de estos tejidos son análogas a las séricas (DALHOFF, 1989; HAYASAKI y col. 1984).

En cuanto a la distribución de las quinolonas en los tejidos reproductores del macho, los estudios realizados revelan que en general la penetración de la ciprofloxacina es la más pronunciada. Así, las concentraciones de norfloxacina en líquido seminal exceden aproximadamente en cuatro veces las concentraciones séricas correspondientes, mientras que la ciprofloxacina lo hace hasta diez veces, encontrándose datos similares en los tejidos prostáticos (SÖRGEL y col., 1988).

La penetración de las quinolonas en la grasa orgánica es menos pronunciada que en otros tejidos. En comparación con los niveles plasmáticos, las concentraciones de ciprofloxacina en la grasa están en el rango entre el 15-40 %, la enoxacina del 20 % y la pefloxacina del 30-60 % , además, las concentraciones de las quinolonas en la grasa corporal disminuyen más rápidamente que las concentraciones séricas (BERGAN, 1988b).

Los niveles de quinolonas encontrados en la piel se corresponden con los séricos, o bien, tienden a exceder las concentraciones séricas con un factor del 50-100 %. En contraste, las concentraciones de quinolonas en los músculos superan significativamente las concentraciones séricas y en el caso concreto de la ciprofloxacina, su disminución es más lenta (a diferencia de lo que ocurre en el caso de la grasa) (DALHOFF y EICKENBERG, 1985).

En general, la penetración de las quinolonas en los tejidos pulmonares es muy marcada, alcanzando concentraciones de más de 5 veces las concentraciones plasmáticas simultáneas, independientemente de la vía de administración. Es necesario, por otra parte, tener en cuenta la capacidad de estos agentes antibacterianos para penetrar en las células fagocíticas, así, las quinolonas se concentran en los macrófagos alveolares aproximadamente 7-8 veces y en los leucocitos polimorfonucleares aproximadamente de 3 a 4 veces . Esta considerable acumulación intracelular de las quinolonas, unida a la elevada penetración extracelular, sería un factor que contribuiría al alto volumen de distribución de estos quimioterápicos (CARLIER y col., 1987).

La concentración de ofloxacina en las secreciones bronquiales es del 53-89 % con respecto a los niveles séricos, mientras que la penetración de la pefloxacina medida como relación AUC secreciones bronquiales/AUC plasmáticas es de 1,7. En el caso de la ciprofloxacina, los niveles en las secreciones bronquiales son variables según el momento de estimación, pero a las 6 horas post-administración

son del 70 %, la administración repetida no parece producir acumulación en las secreciones bronquiales, así la relación AUC secreción bronquial/AUC plasmática no varía entre la primera y la cuarta administración, mientras que para la pefloxacin, las concentraciones en las secreciones bronquiales son similares a las séricas (DALHOFF, 1989).

En cuanto a las concentraciones salivares, los niveles de ciprofloxacina, permanecen constantes en un rango entre el 40-60 % de los valores séricos mientras que en el caso de ofloxacina, enoxacina y pefloxacina son equiparables a éstos, siendo en general la norfloxacina la que menores niveles salivares alcanza (30-50 % de los plasmáticos) (BERGAN, 1988b).

La penetración de las quinolonas en los tejidos otorrinolaringológicos es alta, alcanzándose niveles en las tonsilas o en la mucosa de los senos con valores entre el 100-300 % de las correspondientes concentraciones plasmáticas. También la penetración en las secreciones del tracto respiratorio superior es excelente aún cuando es algo inferior que la penetración en otros tejidos.

Sin embargo, la distribución de las quinolonas en los tejidos oculares es baja, alcanzándose en las lágrimas valores entre el 18-73 % de los plasmáticos (DALHOFF, 1989).

Respecto a la distribución de las quinolonas en el sistema nervioso central, los niveles que alcanza la ciprofloxacina en el líquido cefalo-raquídeo son bajos, del orden del 5-10 % de las plasmáticas en condiciones normales, si bien, cuando las meninges se encuentran inflamadas estos valores se incrementan hasta el 40-90 % siendo en el caso de la pefloxacina y ofloxacina la penetración más extensa que para la ciprofloxacina y la norfloxacina (KITZES-COHEN, 1989).

Los datos sobre la penetración ósea de las quinolonas son contradictorios, atribuyéndose las diferencias de los resultados observados en general a aspectos metodológicos, así, aún cuando las quinolonas poseen una gran afinidad por el tejido óseo, muchas muestras de hueso pueden contener una alta cantidad de sangre y se estaría cuantificando una alta porción de quinolona intravascular. Sin embargo, en el fluido articular los resultados son homogéneos, estando en un rango del 60-100 % de los niveles séricos para el caso de la pefloxacin (BERGAN, 1988b).

En cuanto a la norfloxacin, se ha demostrado su penetración en la mayoría de los tejidos orgánicos, habiéndose observado altas relaciones de concentración tisular/ concentración plasmática en los tejidos renales y prostáticos (BERGERON y col., 1985) y menores en los tejidos otorrinolaringológicos (MURAI y col., 1984; IWASAWA, 1981).

Las concentraciones en bilis son muy variables, según la fluoroquinolona considerada, siendo similares a las séricas para la ciprofloxacina y la enoxacin mientras que la ofloxacina muestra concentraciones en bilis de 1,5-3 veces más altas que en el suero (BERGAN, 1988b), sin embargo, las concentraciones biliares de la norfloxacin son de 7 a 10 veces más altas que la plasmáticas tras una única administración, de 7 a 20 veces durante el estado estacionario (BERGAN, 1988b), y de 3-7 veces las concentraciones plasmáticas según STEIN (1987).

Las concentraciones alcanzadas en heces son altas, así para la norfloxacin la recuperación es del orden del 30 %, mientras que para la pefloxacin, es mas baja (JANIN y col., 1987).

La norfloxacin ha sido detectada en sangre umbilical y en fluido amniótico tras la administración parenteral, mientras que, no ha sido detectada en la leche maternal y en sangre neonatal en el hombre (STEIN, 1987).

II.2.4.-ELIMINACION

Las quinolonas son eliminadas principalmente por metabolismo y excreción renal ya sea por filtración glomerular o secreción tubular activa, siendo también las vías de excreción biliar y transintestinal de especial importancia en estos compuestos (BERGAN, 1988b).

Se ha descrito la posibilidad de reabsorción tubular para las quinolonas, discutiéndose modelos que describen la influencia del flujo urinario y del pH sobre este proceso, siendo en general, los derivados N4-metilados al ser los más lipofílicos, los más susceptibles de ser reabsorbidos (SÖRGEL y KINZIG, 1993).

La extensión y tipo de metabolismo dependen de cada compuesto en particular, si bien se produce principalmente a nivel del anillo 7-piperazínico aunque en menor proporción se puede producir en el grupo 3-carboxílico, habiéndose descrito la glucuronización del grupo 3-carboxílico para la difloxacin y la lomefloxacin.

Las principales rutas metabólicas de las quinolonas son N-oxidación, N-formilación, N-sulfonilación (sulfo-conjugación), N-acetilación y N demetilación.

El grado de biotransformación varía considerablemente según la quinolona considerada, así, este es muy bajo (<10 %) para la ofloxacin y la lomefloxacin, bajo (<20 %) para la norfloxacin y la fleroxacin, medio (25-40 %) para la ciprofloxacin y la enoxacin y alto para la pefloxacin y la difloxacin (NEUMAN, 1988).

Se han identificado cuatro metabolitos de la pefloxacin; esta quinolona es extensamente metabolizada y así cerca del 60 % de la dosis administrada es recuperada en orina. El desmetil-pefloxacin (norfloxacin) aparece en un 20 %, el

pefloxacin N-oxido en un 23 % y la oxo-norfloxacin en un 5 % , apareciendo en orina s3lamente un 9 % de la pefloxacin no biotransformada (MONTAY y col., 1984).

En el caso de la enoxacin se han identificado cuatro metabolitos: oxo-enoxacin, amino-enoxacin, formil-enoxacin y acetil-enoxacin, habiendo pocos datos de esta quinolona. (SINGLAS y TABURET, 1985).

La ofloxacin, es metabolizada en una peque1a proporci3n (3-6 %) y a3n cuando han sido identificados tres metabolitos, los m1s importantes son la N-oxido-ofloxacin y la dimetil-ofloxacin (WHITE, 1987).

Para la ciprofloxacin han sido identificados cuatro metabolitos: aminoetil-amino-ciprofloxacin, ciprofloxacin-n-sulfonato, 2-oxo-ciprofloxacin y n-formil-ciprofloxacin, recuper1ndose en la orina el 60 % de la ciprofloxacin activa y el 7 % como metabolitos. En las heces, aparece el 15 % de la ciprofloxacin administrada, de este, el 10 % aparece como ciprofloxacin no metabolizada y el 5 % restante como metabolitos, siendo el aclaramiento renal de la ciprofloxacin de 2/3 y el aclaramiento no renal de 1/3 (BERGAN, 1988b).

En cuanto a la aminofloxacin, JHONSON y BENZIGER (1985), realizaron un estudio del metabolismo y disposici3n de esta quinolona en ratas y monos. En ambas especies, el 80-90 % de la dosis administrada de amifloxacin es excretada en las 24 horas, siendo la urinaria la principal v3a de eliminaci3n. Se identificaron dos metabolitos, el N-oxido an1logo en rata y mono y el N-desmetil an1logo s3lo en monos. Sin embargo, en este trabajo no fue estudiada la presencia de metabolitos en heces.

En el caso de la norfloxacin, se han identificado seis metabolitos (Figura

II.5) y aproximadamente el 30 % de la dosis administrada es excretada de forma inalterada por filtración glomerular y secreción tubular. El metabolito M-1 (3-oxo-1-piperazínico) es el principal metabolito urinario, si bien, sólo constituye el 20% de la norfloxacin excretada (EANDI y col., 1983; OZAKI y col., 1981).

En general, las quinolonas y sus metabolitos son excretados por filtración glomerular habiéndose señalado la secreción tubular activa como forma de eliminación de algunas de las fluoroquinolonas; estos procesos de secreción tubular son bloqueados por el probenecid en el caso de la ciprofloxacina, mientras que el efecto de este bloqueo sobre la excreción de la norfloxacin parece revestir menor importancia. En definitiva, las fluoroquinolonas pueden sufrir en mayor o menor medida procesos de secreción tubular, con la excepción de la fleroxacin, cuya eliminación parece no ser bloqueada por el probenecid (BERGAN, 1988b).

Estudios basados en la comparación de los valores de aclaramiento renal y filtración glomerular de las diferentes quinolonas han demostrado que mientras la norfloxacin, enoxacin, ciprofloxacina, ácido pipemidínico y ofloxacina sufren mayoritariamente procesos de secreción tubular activa, la pefloxacina y la difloxacina parecen sufrir procesos de reabsorción a nivel tubular (SÖRGEL y col., 1989; SHIMADA y col., 1983).

El aclaramiento renal de la norfloxacin es alto (272-296 ml/min) y las concentraciones urinarias se sitúan en el rango de 100-300 veces las concentraciones plasmáticas simultáneas, por lo que la vía de excrección renal es considerada como la principal vía de eliminación de la norfloxacin (SWANSON y col., 1983).

En cuanto al aclaramiento biliar de las quinolonas, las concentraciones biliares están en el rango de 2-8 veces las concentraciones plasmáticas simultáneas para la ciprofloxacina, la enoxacin, la ofloxacina y la pefloxacina, si bien, transportadas por la bilis hacia el duodeno, podrían ser reabsorbidas a este nivel.

Aunque, las cantidades son despreciables (0,5-1 % para la ciprofloxacina y la norfloxacina) que no se habla de un circuito entero-hepático en sentido estricto, sin embargo, es conveniente señalar, que las concentraciones de quinolonas en el tracto biliar pueden ser de tal magnitud que en algunos casos pueden tener interés terapéutico (BROGARD y col., 1987).

Sin embargo, hay grandes diferencias en cuanto a la excreción biliar de las quinolonas entre las diferentes especies; así la excreción biliar de la pefloxacina en el mono y en el hombre es menos importante que en ratas y perro. Sin embargo, las concentraciones del conjugado glucurónico de la pefloxacina fue de 5-8 veces más grande que el fármaco libre en ratas y perros, pero sólo 0,9 veces en el hombre (MONTAY y col., 1984).

La norfloxacina alcanza altos niveles biliares del orden de 3-7 veces las concentraciones plasmáticas, si bien la vía biliar no es considerada como una ruta de eliminación significativa en el caso de la norfloxacina (STEIN, 1987).

Se ha sugerido, la posibilidad de un efecto de primer paso hepático para la ciprofloxacina y la norfloxacina principalmente, habiéndose atribuido la baja biodisponibilidad de estas moléculas a este hecho, sin embargo, la pefloxacina aún cuando sufre un amplio metabolismo, no parece presentar este efecto de primer paso (NEUMAN, 1988).

Las concentraciones de quinolonas en las heces son altas tras la administración de dosis terapéuticas. En el caso de la ciprofloxacina la eliminación fecal está en el rango del 32 % tras la administración oral y del 18 % después de la administración intravenosa, estando evidentemente relacionados estos niveles con el porcentaje de absorción intestinal y de eliminación biliar, las quinolonas que alcanzan mayores concentraciones en heces tras la administración oral son: la ciprofloxacina, la pefloxacina y la norfloxacina (NEUMAN, 1988).

Aproximadamente el 29 % (rango 8,3-53,5 %) de una dosis única oral de norfloxacin es recuperada en las heces en un periodo de 48 h post-administración (BERGAN, 1988b), obteniéndose las mayores concentraciones fecales de norfloxacin entre 23-36 h post-administración (STEIN, 1987).

Por otra parte, es importante señalar que se ha descrito para las quinolonas la posibilidad de eliminaci3n trasintestinal (BERGAN, 1989); esto implicarí que el fármaco es eliminado por transporte a través de la pared intestinal independientemente de su eliminaci3n biliar.

Las fluoroquinolonas capaces de ser eliminadas por vías renales y no renales (hepáticas y trasintestinales), son la norfloxacin, la ciprofloxacina, la enoxacin, la fleroxacin, la temafloxacina y lomefloxacina (BLUM, 1992).

II.2.5.-FARMACOCINETICA EN SITUACIONES ESPECIALES

Cuando la función renal se encuentra reducida se puede prolongar la semivida de los fármacos eliminados mayoritariamente por orina, sobre todo, cuando la capacidad de otras vías de eliminación alternativas no pueden compensar el déficit suficientemente.

El impacto de la insuficiencia renal sobre la eliminación de las fluoroquinolonas puede revestir importancia sobre todo en el caso de la ofloxacin. En general, las semividas de las principales fluoroquinolonas se incrementan con el fallo renal (ciprofloxacina de 3-4,5 h a 5-10 h; enoxacin de 4-6 h a 5-15 h; norfloxacina de 3-4,5 h a 5-10 h; pefloxacina de 6-14 h a 10-15 h), mientras que la semivida de la ofloxacin pasa de 3-7 h a 40-50 h en el fallo renal (BERGAN, 1988b). Como consecuencia, los regímenes posológicos en la mayoría de las fluoroquinolonas pueden ser los mismos que los utilizados cuando la función renal es normal puesto que son bien tolerados y el impacto de la función renal sobre la $t_{1/2}$ es modesto, con la excepción de la ofloxacin. Si bien, cuando el grado de insuficiencia renal es alto puede requerir el ajuste de dosis (FILLASTRE y col., 1990).

Las reducciones en la filtración glomerular están asociadas a un incremento en la semivida de eliminación y de la AUC plasmática de la norfloxacina y así, cuando el nivel de filtración glomerular esté por debajo de 20 ml/min puede ser necesario un ajuste de la dosificación (HUGHES y col., 1984).

Algunos autores como NEUMAN (1988) recomiendan reducir las dosis o ampliar el intervalo de dosificación cuando el aclaramiento de creatinina se sitúa por debajo de 15 ml/min de todas las fluoroquinolonas con excepción de la pefloxacina.

La insuficiencia hepática severa no altera significativamente las semividas de eliminación de ciprofloxacina y norfloxacina, si bien, se puede producir un moderado incremento de las concentraciones séricas y de la AUC, teniendo en cuenta que la insuficiencia hepática y renal combinadas pueden agudizar el problema (MONTAY y GAILLOT, 1990).

II.2.6.-FARMACOCINETICA DE QUINOLONAS EN ANIMALES

Hasta fechas recientes no poseíamos demasiada información sobre el empleo de las quinolonas en medicina veterinaria. Las primeras citas sobre su utilización para este fin que encontramos en la literatura se remontan a 1976 cuando ZIV y MARCUS evaluaron la farmacocinética del ácido oxolínico en terneros, así como el empleo de otra quinolona de primera generación, el ácido nalidíxico asociado a la neomicina para la diarrea por *E. coli* del ternero o como antiséptico urinario en las especies domésticas.

Ha sido durante la última década, con el descubrimiento de las fluoroquinolonas y los buenos resultados obtenidos en su utilización en medicina humana, cuando han comenzado los estudios de disposición en las diferentes especies domésticas y se ha extendido su utilización en la medicina veterinaria.

II.2.6.1.-AVES

Las quinolonas de primera generación se han utilizado ampliamente para el tratamiento de los procesos infecciosos en las aves, siendo en la actualidad las fluoroquinolonas unos de los quimioterápicos de elección para su profilaxis y control.

La administración de ácido oxolínico a razón de 15 mg/kg/día durante 5 días consecutivos por vía oral, es susceptible de mantener las concentraciones plasmáticas por encima de la CMI de los principales patógenos gram negativos aviarios, distribuyéndose ampliamente por los tejidos estudiados y principalmente a nivel pulmonar. Su eliminación tisular es rápida, estimándose que un período de supresión de 6 días es suficiente para proporcionar todas las garantías al consumidor. En el caso de los huevos, los resultados son más desfavorables puesto que son necesarios

9-10 días tras la supresión del tratamiento para lograr la ausencia de residuos detectables, lo que puede constituir un factor limitante para su uso en gallinas ponedoras (ARCHINBAULT y AMBROGGI, 1987).

Los trabajos publicados sobre la farmacocinética del ácido pipemidínico en los pollos confirman su rápida eliminación en las aves comparada con la descrita para el hombre y sugieren la existencia de dosis-dependencia al comparar los diferentes parámetros farmacocinéticos entre las dosis.

Tras la administración oral, la biodisponibilidad del ácido pipemidínico en pollos toma valores entre 39- 61 % según las dosis, muy por debajo de las descritas en el hombre (93 %) (KLINGE y col., 1978), siendo las concentraciones máximas plasmáticas y las cantidades absorbidas dosis-dependientes aunque no proporcionales, indicando una cierta acumulación. Las concentraciones plasmáticas del ácido pipemidínico se mantenían en los pollos durante 8 horas por encima de las CMI de los principales patógenos aviares gram-negativos (ANADON y col., 1990a).

El ácido piromidínico y la ciprofloxacina son las quinolonas que se absorben más rápidamente en los pollos obteniéndose los máximos niveles plasmáticos entre 0,19-0,22 h post-administración oral. La norfloxacina se absorbe más lentamente ($t_{max}=0,30$ h), mientras que la enrofloxacina, la flumequina y el ácido oxolínico poseen los más altos valores de t_{max} con 1-2, 2 y 2,32 h. respectivamente.

Los picos de concentración plasmática son también variables y dosis dependientes, las semividas de eliminación plasmática fueron muy prolongadas para todas las quinolonas (13,06 h para norfloxacina) salvo para la enrofloxacina que se situaba entre 2-3,5 h (ANADON y col. 1990b).

La flumequina después de su administración intravenosa a palomas sufre una amplia variación individual en la semivida de distribución. Siendo el volumen de

distribución $Vd_{(área)}$ de 0,756 l/kg y el aclaramiento plasmático de 0,400 l/h/kg. Las semividas de eliminación de la flumequina administrada por vía intramuscular y oral fueron más prolongadas en comparación con la vía intravenosa, 1,14 h i.v., 1,44 h i.m. y 1,57 h p.o..

Tras la administración intramuscular se observaron dos picos de concentración plasmática a las 2 y 4 h post-administración, si bien, este segundo pico de concentración plasmática es atribuido por los autores al efecto irritante que produce la formulación de la flumequina, que causa un aumento de la irrigación en el lugar de inyección y subsecuentemente una más rápida absorción, aunque no excluye la posibilidad de la reabsorción de la flumequina tras su excreción biliar (circuito entero-hepático).

Las biodisponibilidades obtenidas fueron del 22-23 % para la dosis intramuscular, mientras que en el caso de la oral fue sólo de 6,7 %, siendo la recuperación en heces de la flumequina 24 veces más alta tras la administración endovenosa ($37,8 \pm 10,8$ %) que tras la oral ($1,6 \pm 0,8$ %). Esta baja recuperación de la flumequina no metabolizada en heces tras la administración oral, indicaría un alto nivel de biotransformación en la mucosa intestinal y/o en hígado y por tanto la inactivación de esta quinolona en las palomas antes de su entrada en circulación sistémica (efecto de primer paso) DORRESTEIN y col. (1983).

La farmacocinética de la norfloxacin en los pollos se caracteriza por una rápida fase de distribución tras su administración intravenosa ($t_{1/2\alpha} = 0,14$ h) y una prolongada fase de eliminación ($t_{1/2\beta} = 8$ h) mientras que tras la administración oral esta es de $t_{1/2\beta} = 12,08$ h, determinándose una biodisponibilidad del $57,0 \pm 2,4$ %.

Tanto la norfloxacin como sus dos principales metabolitos en los pollos, son ampliamente distribuidos en los tejidos detectándose altas concentraciones de norfloxacin y sus dos metabolitos en grasa, hígado, riñón y tejido muscular, siendo

en general eliminados más lentamente a partir de los tejidos que del plasma.

Tras la administración oral de 8 mg/kg durante 4 días se encontraron concentraciones tisulares de norfloxacin y sus metabolitos 12 días después de suspendido el tratamiento, hecho importante para la determinación del período de supresión correspondiente (ANADON y col. 1992).

Los resultados farmacocinéticos obtenidos en las aves tras la administración subcutánea de la enrofloxacin muestran máximos de concentración al cabo de 0,5-1 h y después de la administración oral se aprecian niveles máximos en gallina y pava al cabo de 1-2 h, mientras que en la paloma estos niveles máximos se consiguen tras 4 h. Al igual que en las demás especies estudiadas por SCHEER (1987a), los niveles de enrofloxacin en los tejidos de las aves superan los plasmáticos y el aumento de la dosis produce niveles de principio activo incrementados aproximadamente por el mismo factor.

FLAMMER y col. (1991) realizaron un estudio de la disposición de la enrofloxacin en loros grises africanos una vez realizada la administración intramuscular y oral. En este estudio la vida media de eliminación se sitúa entre 2-3 h cuando la enrofloxacin es administrada extravascularmente, siendo estos resultados similares a los obtenidos por SCHEER (1987a) y ANADON y col. (1990b) para esta quinolona en aves de corral ; obteniéndose una biodisponibilidad relativa del 48 % tras la administración oral. Sin embargo, las características de disposición de la enrofloxacin varían sustancialmente con la administración múltiple. Así, cuando se administraba por vía oral cada 12 h durante 10 días, al final del tratamiento se producía una reducción significativa de las concentraciones medias plasmáticas, del AUC, AUMC, MRT y de la $t_{1/2\beta}$, así como un incremento en la relación ciprofloxacina/enrofloxacin, atribuyendo estos autores este hecho a un incremento en el metabolismo de la enrofloxacin.

La ciprofloxacina en gansos tras una única administración oral, tiene una semivida de eliminación de 2,49 h y en general los parámetros farmacocinéticos calculados son análogos a los ya descritos por otros autores para quinolonas en aves (ISAZA y col., 1993).

II.2.6.2.-PECES

La flumequina, cuando era administrada oralmente a truchas, alcanzaba unos niveles musculares que sólo se mantenían por encima de las CMI de los principales patógenos durante 6 horas cuando la dosis era de 6 mg/kg, pero el tiempo aumentaba a 24 h cuando la dosis era de 12 mg/kg (CHEVALIER y col., 1981).

Las concentraciones hepáticas eran superiores a las obtenidas en el tejido muscular y eficaces hasta 24 h post-administración para ambas dosis, si bien, la eliminación para la dosis de 12 mg/kg se producía muy lentamente (48 h). En las branquias, estructuras que tienen gran importancia en la eliminación de fármacos en los peces y donde asientan infecciones susceptibles de ser tratadas por las quinolonas, se encontraron concentraciones de flumequina eficaces incluso con la dosis de 6 mg/kg. Estableciendo también este mismo autor, que a estas dosis el tratamiento no produce residuos en el tejido muscular a las 48 h de suspendido el tratamiento.

Tras la administración intravenosa de enrofloxacin a trucha arco iris, BOUSER y col.(1992) comprobaron que la fase de distribución fue rápida (6-7 min) para todas las dosis estudiadas, mientras que las semividas de eliminación fueron prolongadas, 24,4 h y 30,4 h para la dosis de 5 y 10 mg/kg respectivamente, siendo estos altos valores de análogos a los obtenidos por CHEVALIER y col.(1981) para la flumequina en esta especie. El volumen de distribución fue elevado 3,22 y 2,56 l/kg respectivamente.

Tras la administración oral, se producen variaciones en los parámetros farmacocinéticos según la temperatura del hábitat , así, la K_a aparente, el $T_{1/2\beta}$ y la biodisponibilidad para todas las dosis es menor a la temperatura de 10 °C que a 15

°C; estimándose en este trabajo que la enrofloxacin a dosis de 5mg/kg/día produce unas concentraciones séricas en el estado estacionario superiores a las MICs de los principales patógenos que afectan a los salmónidos.

II.2.6.3.-MAMIFEROS NO RUMIANTES

Los datos sobre la farmacocinética de la norfloxacin en perros, obteniendose para la administración intravenosa, muestran unos valores de vida media de distribución y eliminación de 0,47 y 3,56 horas respectivamente.

Tras la administración oral, la biodisponibilidad fue muy variable, 35,0 % de media, con un MRT de 5,71 h, produciendose un incremento del AUC con el aumento de la dosis aunque, el AUC por unidad de dosis, disminuye linealmente con el incremento de esta, probablemente porque exista una disminución dosis-dependiente en la absorción de la norfloxacin en el tracto gastrointestinal (BROWN y col., 1990).

La distribución de la norfloxacin en los fluidos extravasculares de los perros, utilizando el sistema de las cajas tisulares y en un régimen de dosificación multiple, muestra que tras la administración oral la C_{max} plasmática, la C_{max} en el fluido de las cajas tisulares y el T_{max} aumentan tras la séptima administración, las semividas de eliminación plasmática fueron análogas para ambas dosis testadas 6,3-6,7 h, mientras que las AUC_t correspondientes a las concentraciones del fluido de las cajas tisulares fueron dependientes de la dosis, siendo el porcentaje de penetración de la norfloxacin en el TCF medido como ($AUC_{TCF}/AUC_{plasmática}$) del 71 % y del 90 % según la dosis.

Desprendiéndose de este trabajo, que la norfloxacin se elimina más lentamente a partir del TCF que del plasma y que las concentraciones de norfloxacin en las cajas tisulares son superiores a las concentraciones séricas entre las 6 y las 12 h post-administración (WALKER y col. 1989).

De forma similar la ciprofloxacina en esta especie, presenta picos de

concentración plasmática dependientes de la dosis pero a diferencia de lo que ocurría con la norfloxacin (WALKER y col. 1989), su T_{max} no era influenciado por la dosis, si bien, fue más tardío en el TCF que en el suero y de igual forma, la semivida de eliminación no era influenciada por la dosificación múltiple, pero fue más prolongada en el TCF que en el suero (WALKER y col. 1990).

El porcentaje de penetración de la ciprofloxacina en el TCF ($AUC_{TCF}/AUC_{sérico}$) fué más alto tras la dosificación múltiple y no fué diferente entre las dosis a diferencia de lo que ocurre con la norfloxacin cuyo grado de penetración en el TCF es dosis-dependiente (WALKER y col. 1989).

Estos datos sobre la ciprofloxacina vienen a confirmar los obtenidos anteriormente por estos autores para la norfloxacin, observándose que ambas quinolonas poseen unas prolongadas semividas en los fluidos extravasculares, mayores que las correspondientes semividas plasmáticas, y son capaces de mantener en estos fluidos, concentraciones que exceden las concentraciones plasmáticas hasta cerca del final del intervalo de dosificación.

Se han determinado, también en el perro, los principales parámetros farmacocinéticos de la enrofloxacin y de su principal metabolito, la ciprofloxacina tras su administración intravenosa y oral. Observándose que tras la administración intravenosa, las concentraciones plasmáticas disminuyen rápidamente en las primeras 6 h post-administración, mientras que desde las 6 hasta las 24 h disminuyen muy lentamente.

Las concentraciones plasmáticas de la ciprofloxacina, aumentaban casi inmediatamente tras la administración intravenosa de la enrofloxacin y se mantenían por encima de 0,01 $\mu\text{g/ml}$ hasta las 24 h post-administración. En cuanto a la $t_{1/2\beta}$, esta fué más prolongada para la ciprofloxacina (3,9 h) que para la enrofloxacin (2,4 h).

Tras la administración oral de enrofloxacin el t_{max} se sitúa entre las 0,3 y las 2 h, mientras que para la ciprofloxacina el t_{max} se obtiene entre las 0,3 y las 6 h (KÜNG y col., 1993).

Las concentraciones de enrofloxacin en el pulmón, riñón, hígado, bazo, grasa corporal, músculos, cerebro, corazón, glándulas adrenales, bilis y en orina en el perro son muy superiores a las obtenidas en el plasma, mientras que en piel, ovario, útero y humor acuoso son inferiores, y en el líquido céfalo-raquídeo toman valores análogos (FROYMAN, 1992).

Estos resultados demuestran la excelente penetración de la enrofloxacin en los diferentes tejidos orgánicos y la capacidad de ésta para atravesar la barrera hematoencefálica, hecho importante puesto que son pocos los quimioterápicos capaces de alcanzar concentraciones eficaces en el líquido céfalo-raquídeo; esta capacidad de las fluoroquinolonas de atravesar la barrera hematoencefálica es también descrita por NEER (1988) para la enoxacin y pefloxacin en el perro, encontrándose para esta última, concentraciones en el líquido céfalo-raquídeo de aproximadamente el 55 % de las concentraciones plasmáticas simultáneas.

Por otra parte, FROYMAN (1992), detecta la presencia de enrofloxacin en el lumen intestinal durante toda la terapia, lo que atribuye a su mantenimiento a través del circuito enterohepático. Las semividas de eliminación de la pefloxacin varían ampliamente entre las especies desde 1,9 h en el ratón, hasta 8,6 h en el hombre. Excepto en el cerebro, las concentraciones en los órganos y tejidos testados por MONTAY y col. (1984) son superiores a las concentraciones plasmáticas simultáneas.

La pefloxacin es excretada en orina y bilis fundamentalmente metabolizada excepto en el ratón, en el cual la pefloxacin no metabolizada es predominante; la excreción biliar aparece como una importante vía de eliminación de la pefloxacin

en ratas y perros.

Es necesario señalar, que aún cuando han sido descritos los mecanismos de secreción tubular activa y reabsorción tubular en la eliminación urinaria de las quinolonas (SÖRGEL y col, 1989; SORGEL y KINZIG, 1993; BERGAN, 1988b; STEIN, 1987; MONTAY y col., 1984), hay grandes variaciones en cuanto a la participación de los diferentes mecanismos entre las diferentes quinolonas y las diferentes especies.

Así, en el caso de la pefloxacin, tanto la secreción tubular como la reabsorción, participan en la excreción renal de esta quinolona. Sin embargo, la contribución de la secreción tubular es muy amplia en el conejo, mínima en el perro y sólo moderada en el hombre (SHIBA y col., 1990).

La secreción tubular activa ha sido observada en los conejos para el ácido nalidíxico, ácido piromidínico, miloxacina y norfloxacin, y en los perros para el ácido pipemidínico; la reabsorción tubular ha sido descrita para el ácido nalidíxico, ácido piromidínico, y miloxacina, mientras que la enoxacina sólo parece ser excretada por filtración glomerular en el perro y en el hombre.

En el conejo y en el hombre hay una marcada participación de los procesos de secreción tubular activa en la eliminación de la norfloxacin, mientras que en los perros esta quinolona se elimina mayoritariamente por filtración glomerular (SHIMADA y col., 1983).

SCHEER (1987a) estudió los niveles plasmáticos y tisulares de enrofloxacin en el ternero, cerdo, gato, perro, pollo y pavo, tras su administración oral, subcutánea e intramuscular.

Salvo en el caso de los carnívoros, los niveles plasmáticos obtenidos tras la administración oral, eran análogos a los obtenidos tras las administraciones parenterales a igual dosis, lo que indica una muy buena biodisponibilidad oral y

estando el T_{max} entre 0,5 y 2 h en todas las especies estudiadas.

En el caso del cerdo, tras la administración intramuscular, se obtuvieron máximos de concentración 1 h post-administración, y al cabo de 24 h, se detectaron todavía concentraciones con actividad antibacteriana. Tras la administración oral a lechones, se produjeron concentraciones uniformes de enrofloxacin entre 1 y 6 horas post-administración. El aumento de la dosis dió como resultado concentraciones incrementadas por el mismo factor y con un comportamiento cinético idéntico. Las concentraciones de enrofloxacin obtenidas en leche de cerdas madres tras la administración intramuscular, toman valores medios semejantes a los obtenidos en el plasma. En todos los órganos y líquidos humorales estudiados se pudo demostrar la presencia de concentraciones de enrofloxacin con actividad antibacteriana. Obteniéndose en general concentraciones más altas que las plasmáticas, si bien, en el cerebro eran mucho menores y en el hígado y riñón, máximas, siendo el paso a través de la barrera hematoencefálica muy limitado para le enrofloxacin en el cerdo.

Los datos aportados en el caso del perro indican que tras la administración intravenosa, al cabo de 1 h post-administración los niveles observados son comparables a los obtenidos tras la administración oral. Los periodos de vida media oscilaron entre 3,2 y 3,4 h. segun la dosis (SCHEER, 1987a).

En cuanto a la administración oral en el perro, las concentraciones máximas de enrofloxacin se produjeron 1 h post-administración y fueron dependientes de las dosis. En todos los organos y fluidos estudiados incluidos orina, bilis y liquido cefalo-raquídeo se pudo demostrar al cabo de las 8 h post-administración la existencia de niveles con actividad antimicrobiana, siendo en general estas concentraciones, superiores a las detectadas en el suero.

Los resultados obtenidos tras la administración subcutanea de enrofloxacin

en el gato muestran concentraciones máximas en el suero a las 2 h post-administración.

Con la administración oral en gato, al igual que en el caso de la subcutánea se obtuvieron niveles máximos en el suero al cabo de 2 h y también al cabo de 24 h se observaron niveles antibacterianos, siendo las concentraciones plasmáticas dosis-dependientes (SCHEER, 1987a).

VANCUTSEM y col. (1990), en su trabajo de revisión sobre la farmacocinética de las fluoroquinolonas en los animales domésticos, llegan a la conclusión que la absorción oral de las fluoroquinolonas es generalmente rápida y sustancial en las especies monogástricas y en los terneros prerumiantes, mientras que en rumiantes adultos es pobre, aproximadamente del 10 % para la enrofloxacin.

Los T_{max} plasmáticos tras la administración oral de enrofloxacin toma valores de 2,5 h para el pollo, 1,4 h para el pavo, 5,4 h para el ternero, 0,9 h en el perro y 0,5 en el caballo. De forma similar, las diferencias interespecie son importantes en cuanto a la semivida de eliminación, así, la enrofloxacin posee una de 7,3 h en el pollo, 1,4 h en el ganso, 1,2 h en el ternero, 2,1 h en el perro y 3,3 h en el caballo (VANCUTSEN y col., 1990).

Las reacciones de metabolización de las fluoroquinolonas en los animales domésticos incluyen predominantemente al anillo piperazínico y sus sustituyentes, teniendo en cuenta que muchos de los metabolitos primarios de las fluoroquinolonas poseen actividad antibacteriana aunque, estos metabolitos tienen una corta semivida de eliminación en comparación con la molécula de la cual proceden (VANCUTSEN y col., 1990).

Las principales rutas metabólicas en los animales domésticos son según este autor:

- N-dealquilación para pefloxacin y muy probablemente también para
-

enrofloxacin.

- Conjugación glucurónica en el N en posición "para" del anillo piperazínico
- Oxidación en posición "orto" de la amina sustituida.
- Apertura del anillo piperazínico.

Se ha descrito que varias fluoroquinolonas son excretadas con rapidez a través de la leche, incluyendo la ciprofloxacina, norfloxacina, enoxacina y enrofloxacin (ZIV y col., 1990; SCHEER, 1987a). Aun cuando, es necesario mayor información a este respecto, se ha sugerido su uso ponderandolas como una muy buena opción para el tratamiento de las mastitis (SUMANO, 1993).

II.2.7.-PARTICULARIDADES FARMACOCINETICAS DE LOS RUMIANTES

Las peculiaridades anatómo-fisiológicas del tracto digestivo de los rumiantes, en comparación con las especies monogástricas, van a condicionar en gran medida la cinética de los fármacos en estas especies, sobre todo en aquellos que son administrados por vía oral o bien llegan al sistema retículo-ruminal por otras vías.

La singularidad del aparato digestivo de los rumiantes reside en el desarrollo evolutivo de una serie de tres cámaras: el rumen, el retículo y el omaso anteriores al estómago glandular o verdadero, el abomaso. Esta adaptación evolutiva, anatómica y fisiológica, permite a los rumiantes adultos sacar provecho de los productos de la fermentación de la celulosa presente en los forrajes, a través de los microorganismos comensales que habitan en los fluidos retículo-ruminales.

Este desarrollo post-natal que caracteriza al aparato digestivo de los rumiantes, da lugar a que se produzcan grandes diferencias en cuanto a la absorción de los fármacos administrados por vía oral dependientes del grado de funcionalidad que hayan adquirido estos proventrículos.

Así, en el nacimiento, los proventrículos de terneros y corderos son prácticamente afuncionales, y se encuentran en un estado de hipodesarrollo, tanto funcional como anatómico, con respecto al abomaso.

En este primer periodo, lactante o prerumiante, la leche ingerida pasa directamente del esófago al abomaso como consecuencia del cierre reflejo de la gotera reticular o canal gástrico (COMLINE y TITCHEN, 1962). Esta estructura anatómica en forma de surco, se transforma en un canal cuando se produce su contracción, posibilitando el paso directo de la ingesta del esófago al abomaso a través del orificio retículo-omasal.

Aún cuando han sido descritos una serie de factores capaces de alterar esta capacidad de cierre de la gotera esofágica, parece que es la edad y el consecuente paso de la alimentación líquida a sólida, el principal factor limitante, puesto que el mecanismo reflejo que provoca el cierre de esta estructura, desaparece de manera espontánea con el tiempo (RUCKEBUSCH, 1977).

De esta forma, si en los animales rumiantes el complejo rumino-reticular es la cámara de destino de los fármacos administrados por vía oral, en los animales prerrumiantes, el cierre de la gotera reticular produce un verdadero by-pass de estas estructuras dirigiéndose los fármacos directamente al abomaso y comportándose, por tanto, farmacocinéticamente como un animal monogástrico.

El desarrollo post-natal del rumen ha sido dividido en tres períodos: una primera fase de prerrumiante estricto desde el nacimiento hasta las tres semanas de vida, una segunda fase o período de transición que abarcaría entre las tres y las ocho semanas y una fase adulta, rumiante propiamente dicha, a partir de las ocho semanas; si bien, estos períodos no son estrictos, puesto que en definitiva el desarrollo anatomo-funcional del complejo rumino-reticular va a depender directamente del tipo de alimentación, líquida o sólida en los períodos de transición (DE BACKER y BOGAERT, 1982).

Durante este tiempo, el volumen rumino-reticular se incrementa, así como el área de la superficie de absorción, ya que se desarrollan las papilas ruminales, estando aceptado que el epitelio ruminal es bidireccionalmente permeable para las formas no ionizadas de las moléculas (JENKINS y col., 1975; DOBSON, 1967), y así, los cambios en el pH del tracto digestivo que se producen durante este período, pueden influenciar en gran medida la difusión no iónica de las moléculas. En los rumiantes adultos, el pH ruminal se encuentra en un rango entre 5,5 y 6,5, mientras que en los terneros de tres semanas el pH ruminal toma valores entre 6,0 y 8,0.

En el abomaso se producen también amplias fluctuaciones del pH durante el desarrollo postnatal, así en el nacimiento el pH del abomaso es de 7,5, pero con la toma del calostro o la leche, este toma valores de 4,0. Posteriormente, durante las siguientes dos semanas, con el incremento de la actividad de la pepsina, el pH abomasal pasa a 2,0 con variaciones temporales según la ingestión láctea, para posteriormente en el rumiante adulto, con la alimentación sólida, pasar a valores de 3,6.

Por otro lado, el establecimiento de la población microbiana comensal en los proventrículos durante las primeras semanas del desarrollo post-natal, puede también influir en la absorción de los fármacos puesto que es posible la metabolización-inactivación de éstos por la microbiota rumino-reticular, lo que daría lugar a una importante eliminación presistémica del fármaco o efecto de primer paso (DE BACKER y BOGAERT, 1982).

En consecuencia, la dilución de los fármacos en el gran volumen del complejo rumino-reticular (16 l en oveja y 150 l en vacas) con un peso aproximado del 20 % del total corporal, la baja relación superficie/volumen a pesar de la existencia de estructuras papilares en rumen y celdillas en el retículo que aumentan esta relación, la relativamente baja irrigación sanguínea de la pared retículo-ruminal, así como la capacidad de la microbiota de estos proventrículos para la degradación de los xenobióticos, van a actuar como factores limitantes en la consecución de óptimas biodisponibilidades tras la administración oral de los fármacos en rumiantes adultos, si bien, se van a producir grandes diferencias en la extensión de la absorción entre el momento del nacimiento y el de total maduración de la funcionalidad de los proventrículos entre los dos y tres meses de edad.

II.2.7.1.-ABSORCION DE FARMACOS A TRAVES DEL EPITELIO RETICULO-RUMINAL

La posibilidad de que fármacos administrados oralmente a rumiantes adultos sean absorbidos a través del epitelio ruminal, ha sido ampliamente documentada tanto *in vitro* (JENKINS y DAVIS, 1975), como *in vivo* (JENKINS y col., 1975; DOBSON, 1967). Desde estos trabajos, se han obtenido una considerable cantidad de datos, que demuestran la hipótesis de que la transferencia a través de este epitelio se produce por difusión pasiva de la fracción no ionizada del fármaco, dependiente del pK_a del fármaco en particular y del pH del medio ruminal y que este paso se puede producir de forma bidireccional puesto que tras su administración sistémica, se ha probado que la efedrina, anfetaminas, quinina, levamisol, salicilatos y pentobarbital entre otros, se distribuyen dentro del fluido ruminal (BOGAN y MARRINER, 1987).

Un fármaco administrado sistémicamente puede ser transferido desde el plasma hacia el fluido ruminal, ya sea a través del epitelio retículo-ruminal o bien, pasando del plasma a la saliva, a través de esta. Los principios físico-químicos que rigen este paso fueron estudiados por DOBSON (1967); así, puesto que el epitelio ruminal es permeable a las moléculas liposolubles pero es relativamente impermeable a las formas iónicas, y que el pH ruminal está en el rango de 5,5-6,5 en el animal adulto, se producirán, para las bases débiles, fenómenos de atrapamiento iónico en el contenido ruminal, especialmente para aquellas bases con un pK_a alto, mientras que los ácidos débiles tenderán a equilibrar su concentración ruminal con la concentración de fármaco libre en el plasma.

La extensión de la ionización de una molécula, puede ser definida a partir de la ecuación de Henderson-Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log (I)/(U) \text{ (para los ácidos)}$$

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log (U)/(I) \text{ (para las bases)}$$

donde (I) y (U) representan respectivamente las concentraciones de la fracción ionizada y no ionizada de la molécula.

Si bien, la relación de concentraciones de una molécula y su distribución teórica entre dos fluidos de diferente pH separados por una membrana biológica, puede ser calculada a partir de la ecuación:

$$C_1/C_2 = 1 + 10^{(\text{pH1}-\text{pKa})} / 1 + 10^{(\text{pH2}-\text{pKa})}$$

donde C_1 y C_2 son las concentraciones de la molécula a cada uno de los lados de la membrana (AUSTIN, 1967).

A parte de estas consideraciones teóricas, hay un gran número de factores prácticos que determinan el bajo grado de absorción a través del epitelio retículo-ruminal comparado con otras partes del tracto gastrointestinal.

En este sentido, es necesario considerar el pobre mezclado entre la fase acuosa, la fase sólida y la fase gaseosa en el rumen, que tienen tendencia a estratificarse; así, un fármaco soluble tenderá a depositarse en la fase acuosa, mientras que uno insoluble lo hará en la fase sólida, pudiendo sufrir fenómenos de adsorción; por esta razón no existe homogeneidad en la concentración del fármaco en contacto con el epitelio ruminal, ya que su concentración, no es continua ni equilibrada.

Adicionalmente, los sólidos en el contenido ruminal, tienden a salir a través del orificio retículo-omasal más despacio que los líquidos y la posible unión del

fármaco, a las partículas que constituyen el alimento, podría contribuir a su mayor permanencia en el rumen. Esto redundaría tanto en el retraso de su absorción en porciones posteriores del tracto digestivo, como en un mayor tiempo de exposición a la acción degenerativa-metabólica de la microbiota ruminal, de la que hablaremos posteriormente.

A partir de los datos de los tiempos medios de aparición de los fármacos en el abomaso, se ha descrito que la fase acuosa progresa para producir concentraciones máximas de los fármacos en el abomaso aproximadamente a las 6 h de la administración intrarruminal en la oveja (BOGAN y MARRINER, 1987), mientras que para dietas secas, los valores más comunes son de 7-14 h, pudiéndose incrementar el tiempo de permanencia durante la inanición hasta en dos días (DOBSON, 1967).

Por otra parte, los gradientes de concentración de la forma no ionizada del fármaco entre el rumen y el plasma, no son nunca elevados (mucho menores que los de abomaso-plasma), y por tanto, especialmente para contenidos pobremente mezclados, la consecución del equilibrio es lenta.

Es necesario también considerar, la relativamente baja superficie de intercambio con respecto al volumen del contenido que poseen los proventrículos. Aunque el peso de las paredes de estos constituye aproximadamente el 2 % del peso corporal, es probable que la baja relación superficie absorptiva/volumen en el rumen, comparada con la de abomaso y duodeno, pueda reducir marcadamente la absorción a este nivel. Aún cuando las involuciones y formaciones papilares de los proventrículos incrementan la superficie y esto podría justificar al aumento de la capacidad absorptiva, es necesario tener en cuenta que en el rumiante adulto muchas de estas papilas están queratinizadas y por tanto no son aptas para la absorción (SISSON y GROSSMAN, ---).

Entre los factores particulares que pueden influir en la distribución de los fármacos en los rumiantes, debe citarse la gran producción de saliva en estas especies. Los rumiantes secretan un enorme volumen de saliva, la mayor parte de la cual es isotónica con respecto al plasma, a un pH medio de 8,2. La secreción diaria en la oveja es estimada entre 6 y 16 l y en la vaca entre 100 y 190 l/día, constituyendo este volumen de una a dos veces el volumen extracelular (DOBSON, 1967).

La importancia de los circuitos rumen-sangre-saliva que pueden completar los fármacos es grande en los rumiantes, puesto que los fármacos pueden difundir rápidamente desde el plasma a la saliva y con ésta pasar a los proventrículos donde pueden metabolizarse-destruirse, reabsorberse a este nivel o bien hacerlo en el tracto digestivo inferior. Este hecho va a cobrar una gran importancia en el caso de los antibióticos y quimioterápicos, puesto que ingresando en el contenido de los proventrículos a través de la saliva, pueden provocar a este nivel alteraciones en la población microbiana comensal (disbiosis microbianas), y dar lugar a alteraciones metabólicas severas.

La formación de una saliva alcalina provoca la posibilidad de retención iónica de fármacos ácidos débiles libres en el plasma. Ya RASSMUSSEN (1964), observó que algunas sulfamidas y barbitúricos estaban concentrados, como era previsible a partir de su pK_a , en la saliva procedente de las parótidas de vacas y cabras. La máxima concentración observada era de 3,8 veces la concentración plasmática. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que dado la rapidez con que se forma y el gran volumen de secreción salivar, a veces no existe el suficiente tiempo para que se produzca el equilibrio de concentración sangre-saliva de un fármaco cuando esta se forma. Esto podría constituir un importante factor limitante en la eliminación de los fármacos por esta vía, especialmente cuando el nivel de secreción es alto (DOBSON, 1967).

Aún así, la eliminación de los fármacos por vía salivar en rumiantes, puede alterar la cinética de compuestos no susceptibles de ser metabolizados en el rumen, o bien, puede convertirse en ruta de excreción de fármacos que administrados sistémicamente sean destruidos por la flora ruminal (BOGAN y MARRIMER, 1987).

La idea de SCHELIN (1973) según la cual, la microflora gastrointestinal posee un potencial metabólico equivalente cuantitativamente al del hígado, parece perfectamente posible al considerar el contenido retículo-ruminal de los rumiantes, sobre todo teniendo en cuenta que los rumiantes, a nivel hepático, solo son capaces de realizar biotransformaciones metabólicas de fase II, mientras que las de fase I se desarrollan principalmente en el rumen por el concurso de la microbiota ruminal (PRINS, 1987).

El contenido de estos proventrículos posee una microbiota tan variada como activa que puede abastecer a través de su metabolismo glucídico, proteico y lipídico las principales necesidades alimenticias en el animal adulto.

La microbiota está compuesta por más de 10^{11} bacterias y más de 10^6 protozoarios por ml. de contenido ruminal además de levaduras y hongos, constituyendo un medio de cultivo metabólicamente activo a donde pueden ir a parar los fármacos administrados.

Cuando un fármaco se transforma en el rumen, esta alteración puede deberse a una reacción enzimática o no enzimática. Se pueden encontrar reacciones no enzimáticas con moléculas inestables, este es el caso de la labilidad de la bencilpenicilina en medio ácido o de algunas tetraciclinas, mientras que las bacterias y/o los protozoarios son los responsables de las transformaciones enzimáticas, hecho que se ha puesto en evidencia por fraccionamiento de la flora ruminal (SCHMIDT y LOSERTH, 1989).

Las principales reacciones metabólicas enzimáticas que pueden sufrir los fármacos a nivel ruminal son según PRINS (1987):

- reacciones de hidrólisis.
- reacciones de reducción.
- reacciones de fisión.

La mayoría de los estudios sobre el metabolismo ruminal de los fármacos se han realizado sobre los agentes quimioterápicos, siendo las bacterias ruminales capaces de producir una amplia variedad de transformaciones bioquímicas sobre estos. Así, se ha descrito la reducción y rápida destrucción del cloranfenicol y del trimetoprim por la flora ruminal, así como del levamisol o las ivermectinas (BOGAN y MARRINER, 1987).

SCHMIDT y LOSERTH (1989) realizaron un estudio sobre el grado de degradación de algunos quimioterápicos y antibióticos en ovejas, testando el grado de metabolización sobre líquido ruminal fresco y utilizando como testigo líquido ruminal inactivado por choque térmico. La degradación mas extensiva la presentaban las sulfamidas, el dimetridazol, el metronidazol y el cloranfenicol que tras 3 h de exposición presentaban un grado de degradación entre el 88 y el 99 %, mientras que, la bencil-penicilina tras cinco horas presentaba una degradación del 29 %, la tetraciclina del 19 %, la clortetraciclina del 20 % y la minociclina del 24 %, si bien, la degradación de la bencil-penicilina, tetraciclina, clortetraciclina y minociclina no parece ser consecuencia del metabolismo microbiano, sino de una inestabilidad química, ya que se obtenían los mismos resultados sobre el líquido ruminal inactivado, así, tras 5 h de exposición, la oxitetraciclina, el tiamfenicol, la dihidroestreptomicina, tobramicina, amikacina, colistina y tilosina, no parecían presentar metabolización microbiana.

En otras ocasiones, la microbiota de los proventrículos puede actuar

activando los fármacos administrados oralmente como ocurre con algunos antihelmínticos benzimidazólicos como el netobimín, que se reduce en el rumen de los terneros a albendazol (más activo) (LANUSSE y col., 1993), o el fembendazol que se transforma en oxfendazol (más activo) en el rumen de las ovejas (MARRINER y BOGAN, 1981).

Es lógico pensar que la actividad tanto cualitativa como cuantitativa de la microflora ruminal sobre los fármacos, va a depender tanto de la edad del animal como del equilibrio alimenticio, puesto que están descritas variaciones, tanto individuales como locales, de las transformaciones metabólicas microbianas consecutivas a los cambios o al tipo de alimentación (JONES, 1981).

Ya ha sido apuntada anteriormente la importancia del grado de desarrollo de los proventrículos sobre la biodisponibilidad de los fármacos administrados por vía oral en los rumiantes; este hecho se ejemplifica en los trabajos realizados sobre la biodisponibilidad del cloranfenicol administrado por vía oral a rumiantes de diferentes edades, encontrándose las biodisponibilidades más altas en terneros de una semana de edad, decreciendo esta rápidamente hasta las cuatro semanas para posteriormente, disminuir más lentamente entre las cuatro y las once semanas de vida del animal.

Sin embargo, con la misma dosis administrada a terneros entre las 12 y las 18 semanas, las concentraciones plasmáticas obtenidas eran muy bajas y erráticas, si el cloranfenicol era administrado a vacas adultas, su presencia no era detectable en el plasma (DE BACKER y col., 1978).

Este hecho es atribuible al desarrollo de la funcionalidad del retículo-rumen, al retraso en su vaciamiento y a una ineficiente absorción del cloranfenicol a partir de los proventrículos a diferencia de su absorción abomasal (DE BACKER y

DEBACKERE, 1979), pero fundamentalmente a su metabolización por la flora ruminal más rápidamente de lo que este puede ser absorbido (DE CORTE-BAETEN y DEBACKERE, 1978; SCHMIDT y LOSERTH, 1989).

Además de la posibilidad de inactivación metabólica por la microbiota de los proventrículos que pueden sufrir los fármacos, es necesario tener en cuenta que este efecto puede ser bidireccional y que los fármacos administrados pueden también provocar alteraciones en el ecosistema retículo-ruminal. De esta forma, los fármacos o sus metabolitos pueden alterar el funcionamiento de los proventrículos, ya sea por alteración de la población microbiana o bien por afectación de determinados procesos como la admisión de alimentos, la motilidad ruminal, etc. Este hecho reviste una gran importancia cuando el fármaco administrado es un antibiótico.

Estudios sobre la sensibilidad de las bacterias ruminales a los antibióticos indican que esta susceptibilidad se produce en los casos de: bacitracina, cloranfenicol, eritromicina, novobiocina, oleandomicina, oxitetraciclina, penicilina, tetraciclina, tilosina y vancomicina, mientras que un gran número de especies no presentaban inhibición por la kanamicina, neomicina, estreptomicina y polimixina (PRINS, 1987).

El tratamiento de los desórdenes ruminales con antibióticos y quimioterápicos ha sido defendido desde hace tiempo. La penicilina ha sido utilizada para el tratamiento del meteorismo, y el lasalocid, la monensina y otros antibióticos ionóforos, son efectivos contra la acidosis láctica.

Sin embargo, es necesario sopesar las ventajas y los inconvenientes que pueden producir este tipo de tratamientos puesto que la destrucción de la microflora ruminal, la reducción de la motilidad y la diarrea han sido descritos como alteraciones secundarias a su utilización. Así, la aplicación oral de penicilina, estreptomicina, cloranfenicol, terramicina, o aureomicina, deprimen severamente la

función ruminal en la oveja, mientras que para el tratamiento de la coccidiosis y de algunas infecciones gastrointestinales, las sulfamidas (sulfaguadina y sulfamidina) pueden ser administradas oralmente a dosis de 0,1 g/kg a rumiantes adultos por un período superior a 5 días sin alterar aparentemente las funciones ruminales (PRINS, 1987).

Por otra parte, es necesario tener en cuenta, como ya se ha apuntado anteriormente, que los antibióticos y las sulfamidas pueden ser excretadas a través de la pared ruminal o por las glándulas salivares después de ser administradas por vía sistémica (JENKINS, 1969; JENKINS y DAVIS, 1975; ATEF y col. 1981) y que si alcanzan a nivel ruminal concentraciones suficientes pueden dar lugar a las alteraciones descritas.

Los conocimientos sobre las concurrencias farmacológicas de la administración oral de medicamentos a los rumiantes son limitados. Las interacciones entre el animal huésped, los microorganismos y los fármacos se vuelven extremadamente complicadas y difíciles de predecir en estas especies. Es necesario por tanto, un conocimiento sistemático de los factores que van a determinar la distribución de los fármacos administrados por vía oral en los rumiantes.

II.2.8.-FARMACOCINETICA DE QUINOLONAS EN RUMIANTES

Los primeros trabajos sobre la farmacocinetica de las quinolonas en los animales rumiantes, fueron realizados por ZIV (1976) que estudió la farmacología clínica y farmacocinética del ac.oxolínico en terneros que, aun cuando estaban en un rango de edad entre 3-5 semanas , los consideramos rumiantes tempranos puesto que tenían libre acceso a la ingestión de alfalfa. El ácido oxolínico fue administrado oralmente junto con el reemplazante lácteo a un grupo de terneros a dosis entre 12,5-57,0 mg/kg, mientras que, a otro grupo se le administró oxolinato sódico intramuscularmente a dosis entre 12,5-20,0 mg/kg.

En el grupo de administración oral, el ácido oxolínico se detectaba en el plasma a los 15 min post-administración, produciéndose la (C_{max}) a las 10 h de la administración de la dosis de 50 mg/kg, mientras que para la dosis de 12,5 mg/kg, la C_{max} se producía a las 7 h, siendo detectable en plasma 24 h post-administración en ambas dosis.

La administración intramuscular de oxolinato sódico daba lugar unas C_{max} dosis-dependientes y el ácido oxolínico era detectable en plasma 1 h post-administración y durante 10 a 12 h según la dosis. Por tanto, el ácido oxolínico se absorbe muy lentamente en los terneros, aun cuando se obtienen concentraciones plasmáticas terapéuticas que se mantienen al menos durante 8 h tras la administración oral , mientras que para el mantenimiento de concentraciones plasmáticas efectivas, el oxolinato sódico por vía intramuscular debería de ser administrado cada 4 h para la dosis más alta estudiada.

Es quizás la enrofloxacin, la quinolona más ampliamente utilizada en medicina veterinaria. SCHEER (1987a) estudió la disposición de la enrofloxacin en terneros de una edad comprendida entre los 3 días y las 16 semanas. Hasta la edad de 12 semanas, se alimentó a los animales con sucedáneo de leche exento de

antibióticos, para a partir de esta edad pasar a alimentarse con forraje concentrado y heno.

Tras una única administración intravenosa de 2,5 mg/kg de enrofloxacin, se observaban al cabo de 24 h en la mayor parte de los animales niveles todavía antibacterianos, mientras que tras la administración intramuscular y subcutánea de la misma dosis, se encontraron a las 2 h post-administración los niveles máximos de enrofloxacin, manteniéndose al igual que en la administración intravenosa, niveles antibacterianos 24 h post-administración.

La duplicación de la dosis a 5 mg/kg tuvo como consecuencia una elevación de la C_{max} proporcional y tratamientos subsiguientes orales, distanciados 24 h, tras una inyección parenteral dieron lugar a concentraciones que con sus máximos estaban, por lo general, por debajo de las conseguidas tras la administración parenteral, apareciendo las concentraciones máximas plasmáticas entre 4-6 h post-administración oral.

En la administración oral de enrofloxacin a terneros de una edad comprendida entre 3 días y 4 semanas, se apreciaron máximos de concentración plasmática análogos, llegándose a estos niveles máximos al cabo de las 6 h post-administración, mientras que en animales de edades comprendidas entre las 8 y las 12 semanas, los máximos de concentraciones plasmáticas se desplazaban a 1-2 h post-administración, y en los animales de 16 semanas de edad, cuyo régimen de alimentación había sido cambiado, se apreciaron niveles máximos menores que en los anteriores grupos 1 h post-administración.

En los terneros de hasta 4 semanas de edad, se observaban al cabo de 24 h, niveles de enrofloxacin terapéuticamente efectivos mientras que en terneros de mayor edad no se detectaba al cabo de este tiempo el principio activo, o a lo sumo concentraciones entre 0,04-0,06 $\mu\text{g/ml}$ y una duplicación de la dosis producía un

aumento de las concentraciones plasmáticas proporcional.

En general, según VANCUTSEN y col. (1990), la absorción oral de enrofloxacin en rumiantes adultos es pobre, aproximadamente del 10 %, mientras que en los terneros prerumiantes, al igual que ocurre con las especies monogástricas, es mayor del 80 %.

Se ha comparado la farmacocinética de la norfloxacin en ovejas sanas y con mastitis, estudiando los niveles alcanzados en plasma y leche tras su administración intramuscular y supramamaria.

Tras la administración supramamaria las concentraciones plasmáticas máximas se obtienen a la media hora post- administración, y son algo menores en las ovejas sanas que en las ovejas con mastitis, mientras que a las 8 h post-administración la enrofloxacin no es detectable en plasma.

Tras la administración intramuscular, los niveles plasmáticos máximos se obtienen al cabo de 1 h post-administración, siendo también algo más elevadas en las ovejas con mastitis, disminuyendo las concentraciones plasmáticas hasta un nivel mínimo a las 4 h en las ovejas con mastitis y a las 8 h en las ovejas sanas y habiendo en plasma una ausencia total de enrofloxacin a las 24 h post-administración.

Las mayores concentraciones de enrofloxacin en la leche de las ovejas con mastitis se obtienen 1 h post-administración tras la administración supramamaria e intramuscular, siendo las concentraciones obtenidas análogas por ambas vías, disminuyendo progresivamente hasta las 8 h (PUGLIESSE y col., 1993).

Se ha estudiado la farmacocinética de la flumequina en terneros rumiantes entre 3-5 semanas de edad por ZIV y col.(1986). Tras la administración intravenosa

se utilizó un modelo bicompartimental abierto para el análisis de las concentraciones plasmáticas. La semivida de distribución fue de 13 min y la de eliminación de 2,25 h, siendo el $V_{d(\text{área})}$ y el V_{cc} de 1,48 y 1,43 l/Kg respectivamente. La flumequina fue rápida y completamente absorbida tras la administración intramuscular de una formulación soluble mientras que cuando la flumequina era administrada en forma de suspensión oleosa, la biodisponibilidad se reducía al 44 %.

Tras la administración oral, la flumequina era rápidamente absorbida por los terneros, siendo la biodisponibilidad oral del 55,7 % para una dosis de 5 mg/kg y del 92,5 % para una dosis de 20 mg/kg.

La administración concomitante de probenecid oral o intramuscular no producía cambios sobre la C_{max} de la flumequina pero aumentaba significativamente el tiempo de eliminación.

Posteriormente MEVIUS y col. (1989), estudiaron la absorción oral y la biodisponibilidad de la flumequina en terneros de carne de 1-2, 5-6 y 18 semanas de edad. Todos los grupos de terneros fueron alimentados estrictamente con reemplazante lácteo por lo que eran considerados como prerrumiantes por los autores.

La flumequina fue administrada en solución al 10 % por vía intravenosa mientras que para la administración oral fueron utilizadas tres formulaciones diferentes: flumequina pura, flumequina en fórmula comercial y flumix C® (que contenía 20 g de flumequina y 20×10^6 U.I. de sulfato de colistina/kg).

Tras la administración intravenosa se observaba que la AUC_{∞} del grupo A (1-2 semanas) es aproximadamente del doble del AUC_{∞} de los grupos B (5-6 semanas) y C (18 semanas). Según los autores estas diferencias no son atribuibles a una insuficiente función renal en los terneros del grupo A, puesto que no hay

diferencias significativas en la recuperación urinaria de la flumequina tras 48 h y el $t_{1/2}$ de eliminación es muy parecido en los tres grupos, sino a una disminución en el volumen de distribución para estos terneros de 1-2 semanas de edad.

Después de la administración oral de la flumequina comercial la C_{max} alcanzada en los tres grupos es más alta en este estudio que la encontrada por ZIV y col.(1986), lo cual podría deberse a la diferente formulación utilizada o a la manera en que la flumequina fué administrada. Puesto que los terneros utilizados por ZIV y col.(1986) pueden ser considerados como rumiantes tempranos, es probable que la forma de administración de la flumequina no estimulara el total reflejo de cierre de la gotera reticular y esto, tener un efecto negativo sobre la absorción de la flumequina mientras que, en el trabajo de MEVIUS y col.(1989) la quinolona administrada mezclada con el reemplazante lácteo, pudo ser vehiculada directamente hacia el abomaso.

El incremento de la edad tenía una influencia negativa sobre la C_{max} después de la administración oral de la flumequina, pudiendo estar causadas estas diferencias por los mayores volúmenes de reemplazante lácteo en las raciones de los grupos de mayor edad, puesto que ha sido descrito con anterioridad los efectos negativos de los cationes bivalentes sobre la absorción de las quinolonas (STAHLMANN y LODE, 1988; JANKNEGHT, 1990).

Por otra parte, el efecto de primer paso descrito por DORRESTEIN y col. (1983) en cerdos debido a la inactivación de la flumequina en la mucosa intestinal y a una extensa metabolización hepática tras la administración oral, no ha sido observado en el trabajo de MEVIUS y col. (1989), así las biodisponibilidades encontradas fueron superiores al 100 % en todos los casos salvo para la administración de la flumequina junto a la colistina que era del 75,9 %. La significativa bajada de la C_{max} y de la biodisponibilidad después de la adición de sulfato de colistina a la flumequina puede ser atribuida a la formación de complejos

de la flumequina bien con el sulfato, bien con la colistina en el intestino, o bien a que la colistina tuviera un potente efecto negativo sobre la recirculación entero-hepática.

En un trabajo de posterior publicación (MEVIUS y col., 1990b) utilizando los mismos grupos de edades, la $t_{1/2\beta}$ de la flumequina estaba en el rango de 6-7 h para todos los grupos y el Vd_{β} y el Cl_{β} de los terneros de 1 semana de edad fue significativamente más bajo que en los terneros de 5 semanas.

Es necesario tener en cuenta, que aun cuando el valor de $t_{1/2\beta}$ de la flumequina en terneros obtenido por ZIV y col. (1986) fue mucho más bajo que el aportado por MEVIUS y col. (1990b), la sensibilidad del método microbiológico utilizado por ZIV y col. (1990) era baja, mientras que en los trabajos de MEVIUS y col. (1989-1990b), la detección de la flumequina mediante HPLC poseía una sensibilidad mayor y la flumequina podía ser detectada durante más tiempo y esto explicaría los bajos valores de $t_{1/2\beta}$ obtenidos por ZIV y col. (1986).

Por otro lado, en los trabajos de MEVIUS y col. (1989-1990b) fueron utilizados terneros prerrumiantes con un pH urinario menor de 7, sin embargo, ZIV y col. (1986) usaron terneros rumiantes los cuales presentaban un pH urinario mayor de 7. Este hecho podría afectar a la excreción de la flumequina no conjugada en la orina de los terneros rumiantes. Sin embargo, debido a la rapidez con que la flumequina se transforma en el conjugado glucurónico, el cual es rápidamente eliminado por la orina, este efecto del pH no parece ser significativo. Así, tras 48 h de la administración I.V. solamente el 3,2-6,5 % de la dosis fue excretada en la forma no conjugada.

El Cl_{β} era significativamente más bajo en el grupo de terneros de 1 semana y esto podría ser debido según los autores, tanto al incompleto desarrollo de la funcionalidad hepática como de la renal, sin embargo, no había variación con la

edad en cuanto a los valores $t_{1/2\alpha}$ y de $t_{1/2\beta}$, pero los valores de C_{max} y de biodisponibilidad fueron más altos en los terneros más jóvenes (MEVIUS y col., 1990b).

También fueron estudiados por MEVIUS y col. (1991) los efectos de la infección experimental por *Pasteurella haemolytica* sobre la farmacocinética de la flumequina por vía intravenosa e intramuscular en terneros rumiantes. Los volúmenes de distribución tras la infección fueron más pequeños que antes de la infección, pero las diferencias no fueron significativas para un $P \leq 0.01$. Sin embargo, el área bajo la curva AUC_{∞} para la administración I.V. se incrementó significativamente y el aclaramiento corporal total (Cl_b) disminuyó significativamente tras la infección. Mientras que tras la administración intramuscular, solamente la biodisponibilidad de la flumequina disminuyó significativamente tras la infección.

La danofloxacin es una nueva fluoroquinolona desarrollada específicamente para su uso veterinario. Su actividad *in vitro* así como sus propiedades farmacocinéticas han sido estudiadas por GILES y col. (1991) para testar su uso potencial en las enfermedades respiratorias del ternero. Tras la administración intravenosa de danofloxacin a terneros rumiantes, las concentraciones plasmáticas parecen disminuir de una forma biexponencial, indicando fases de distribución y eliminación. La danofloxacin fué rápidamente absorbida tras la administración intramuscular y subcutánea, siendo su biodisponibilidad virtualmente completa. Los perfiles de concentración plasmática fueron similares para las vías intramuscular y subcutánea sin diferencias significativas en el AUC tras la primera, tercera o quinta administración diaria consecutiva, si bien los picos de concentración plasmática eran más altos tras la administración intramuscular.

Tras la administración intramuscular la media del pico de concentración pulmonar de la danofloxacin fue 4,1 veces más elevado que en el plasma, y de forma análoga la AUC pulmonar fue 3,7 veces la plasmática, que junto al gran

volumen de distribución encontrado (2,48 l/kg) indican la amplia distribución de la danofloxacin en los tejidos del ternero. Resultando tanto las concentraciones plasmáticas como pulmonares terapéuticamente efectivas.

La danofloxacin en terneros prerrumiantes, (4-6 semanas de edad), posee una semivida de eliminación ($t_{1/2\beta}$) de 7,4 h (FRIIS, 1991b), siendo esta bastante más prolongada que la establecida por GILES y col. (1991) en terneros rumiantes que toma valores en torno a las 4 h.

El aclaramiento orgánico total (CL_R) obtenido por FRIIS y col. (1991b) y el volumen de distribución V_{ec} fueron también más altos que los obtenidos por GILES y col. (1991) en terneros rumiantes, lo que indica que la danofloxacin se concentra en los tejidos. Las concentraciones de danofloxacin en las secreciones nasales y bronquiales son máximas 1 h post-administración siendo las relaciones secreción nasal/plasma y secreción bronquial/plasma de 0,48 y 0,97, mientras que en la mucosa bronquial y en el tejido pulmonar, las concentraciones obtenidas 1 h post-administración son aproximadamente de 3 y 5 veces respectivamente más altas que las plasmáticas, lo cual enfatiza la alta acumulación tisular.

Recientemente MANN y FRAME (1992) han estudiado la farmacocinética de la danofloxacin en terneros rumiantes tras la administración intravenosa, subcutánea, intramuscular y oral. Tras la administración oral y subcutánea de la danofloxacin, las concentraciones plasmáticas máximas se obtenían 1 h post-administración, si bien, las concentraciones plasmáticas tras la administración oral estaban en el rango o eran menores que el nivel mínimo de detección del método (0,05 $\mu\text{g/ml}$) en todas las pruebas hasta las 12 h post-administración.

Las C_{max} y las AUC fueron proporcionales (dosis-dependientes) en los terneros que recibieron la danofloxacin por vía intramuscular, siendo la $t_{1/2\beta}$ de 2,9 h para la administración intravenosa, 4,3 h para la subcutánea y 2,9 h para la

intramuscular a ambas dosis ensayadas, mientras que las concentraciones pulmonares, obtenidas entre las 4 y 12 h post-administración, fueron análogas a las encontradas por GILES y col.(1991).

La farmacocinética de la ciprofloxacina, ha sido estudiada en rumiantes por varios autores. NOUWS y col. (1988) en terneros prerrumiantes de 4 semanas de edad tras la administración intravenosa de ciprofloxacina obtuvieron valores de $t_{1/2\alpha}$ y $t_{1/2\beta}$ que indican una rápida y buena distribución, siendo la relativamente corta semivida de eliminación análoga a la obtenida para la flumequina en terneros rumiantes por ZIV y col. (1986) y siendo el $Vd_{(área)}$ calculado para la ciprofloxacina en terneros muy alto.

Tras la administración oral, se producían los máximos de concentración plasmática de ciprofloxacina entre 2-3 h post-administración. La semivida de disposición de la ciprofloxacina en terneros, fue tras la administración oral aproximadamente tres veces más prolongada que tras la intravenosa, lo que es atribuible, según NOUWS y col.(1988) a la lenta liberación del fármaco a partir del reemplazante lácteo que produce la prolongación de la absorción. Por otra parte, la biodisponibilidad basada en la AUC es del 53,0 % y basada sobre la recuperación urinaria del 58,0 %.

El valor de aclaramiento renal de la ciprofloxacina libre fué unas diez veces más alto que el aclaramiento de la creatinina, lo que indicaría un predominio de la secreción tubular de la ciprofloxacina en el ternero.

La ciprofloxacina en oveja adulta presenta tras la administración intravenosa, un valor de $T_{1/2\beta}$ de 1,44 h (LLOVERIA, 1992), valor significativamente más bajo que el obtenido por NOWS y col. (1988) en terneros prerrumiantes, mientras que el V_{ec} de 2,35 l/Kg es análogo al obtenido por otros autores, indicando estos resultados una amplia distribución de la ciprofloxacina en la oveja, con un valor del

volumen de distribución en el compartimento central de 0,36 l/Kg, muy superior al correspondiente al líquido extracelular, lo que indica que la ciprofloxacina es capaz de difundir hacia el agua intracelular.

En la administración oral de ciprofloxacina en la oveja adulta fueron ensayadas 4 dosis de 2,5; 5; 7,5; y 10 mg/Kg; no encontrándose para ninguna de las dosis biodisponibilidades superiores al 10 %. Mientras que tras la administración intramuscular de 7,5 mg/kg de ciprofloxacina se observó una rápida absorción, una biodisponibilidad del 49 % y un volumen de distribución extremadamente elevado de 5,3 l/Kg.

Mostrando las curvas de excreción urinaria que el 39,95 % de la dosis es eliminada por esta vía en 48 h (SANTOS, 1992).

III.- MATERIAL Y METODOS

III.- MATERIALES Y METODOS

III.1.- MATERIALES

III.1.1.- MATERIAL BIOLOGICO

Se utilizaron siete ovejas y cinco corderos de 21 días de edad de raza Awassi x Talaverana cuyas pautas de utilización se presentan en las Tablas III.1 y III.2.

III.1.2.- FARMACOS UTILIZADOS

Tanto la norfloxacinina utilizada para la realización de las pruebas, como la enrofloxacinina empleada como patron interno, fueron suministrados como productos puros por los laboratorios Hipra S.A.(Gerona).

Para la anestesia quirúrgica en la colocación de las cánulas ruminales se utilizó xilacina (Rompun®), ketamina (Ketolar®), lidocaina (Xilocaina Ovejero®) y penicilina-estreptomicina (Biopenicil-Estrepto®) en el post-operatorio.

Para la obtención del plasma, las sangres eran tratadas con heparina 5 % (Heparina Leo®).

Todas las ovejas fueron desparasitadas con albendazol (Valbazen suspensión 1,9 % ovino®) (7 mg/kg).

PRUEBA	DURACION	OBSERVACIONES
1.- Adaptación y preparacion	2 semanas	Desparasitacion Examen clínico Analítica sanguínea
2.- Intervención quirúrgica		Colocación cánulas ruminales
3.- Periodo post-operatorio	4 semanas	Control evolución
4.- Administración intravenosa	50 horas	
5.- Administración intramuscular	48 horas	7 dias despues de la I.V.
6.- Administración oral	48 horas	10 dias despues de la I.M.

Tabla III.1. .- Protocolo de las pruebas realizadas con ovejas.

PRUEBA	DURACION	OBSERVACIONES
1.- Adaptación y preparacion	1-3 semanas de vida	* Examen clínico * Analítica sanguínea
2.- Administración oral	48 horas	* Realizada a los 21 días de edad
3.- Administración intravenosa	48 horas	* Realizada a los 28 días de edad

Tabla III.2.- Protocolo de las pruebas realizadas con corderos.

III.1.3.- CANULAS RUMINALES

Para la realización de las cánulas se buscó material asequible y económico, de baja reactividad histológica, siguiendo las indicaciones de KOMAREK (1981) BONAFONTE y col. (1985). Las cánulas estaban compuestas de 5 piezas separables de polivinilo o goma según se describe en la Figura III.1.

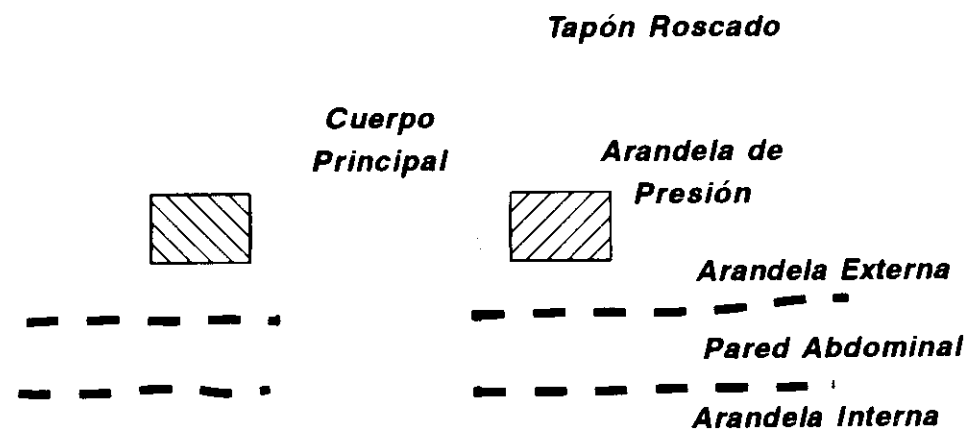


Figura III.1.- Esquema de las cánulas ruminales utilizadas.

III.1.4.- REACTIVOS

- Acido acético glacial.(Panreac).
- Alcohol bencílico.(Panreac).
- Carbonato sódico.(Panreac).
- Hidróxido sódico.(Panreac).
- Acetonitrilo (calidad HPLC).(Panreac).
- Agua ultrapura (Milli Q).
- Fosfato potásico monobásico.(Carlo Erba).
- Acido heptansulfónico sódico.(Aldrich).
- Acido fosfórico (98 %).(Aldrich)
- Diclorometano.(Sigma).
- Buffer fosfato (0,1 mol/l) pH 7,4 (Sigma).
- Acido fórmico (9 %).(Carlo Erba).
- Suero salino isotónico.(Ybis).
- Nitrógeno gas (pureza 40 %).(Argon).
- Helio gas (Pureza 4.8 %).(Argon).

III.1.5.- MATERIAL FUNGIBLE

- Jeringas y agujas estériles desechables.
- Catéteres intravenosos VASOCAN BRAUNÜLE®
 - diámetro 1,4 mm/176 X 45 mm.
 - diámetro 1,0 mm/206 X 20 mm.
- Obturadores para catéteres VASOCAN BRAUNÜLE®
 - diámetro 1,4 mm/176 X 45 mm
 - diámetro 1,0 mm/206 X 20 mm
- Tubos Eppendorff (1,5 ml).

- Viales de plástico (5 ml).
- Filtros de purificación de solventes (GV,0,22vM)(Millipore).
- Sondas nasogástricas.
- Gasas estériles 20x20.(Aposan)
- Guantes de latex.(Surgex).
- Material de vidrio diverso.
- Material e instrumental quirúrgico general.

III.1.6.- INSTRUMENTACION

- Balanza de precisión.(Mettler AE-160).
- Centrífuga.(Selecta meditronic).
- Centrífuga.(Heraeus).
- phmetro.(Crison, microPH 2001).
- Micropipetas.(Gilson).
- Agitador magnético.(Selecta, agimatic 243).
- Purificador de agua Milli-Q.(Millipore).
- Dosificador oral.(SBC, Diamant db-3000).
- Bomba de vacio.(Masterfiex, Millipore).
- Concentrador de muestras.(Techne, DB-3A).
- Congelador -20 °C.(Ariston ***).
- Espectrofotómetro.(Beckman, DV-850).
- Ordenador.(IBM, PS/1).
- Impresora.(Hewlett Packard, Laserjet 4L).
- Equipo de cromatografía líquida de alta eficacia:
 - Bomba.(Kontron, 420).
 - Formador de gradientes.(Kontron 425).
 - Detector de fluorescencia.(Waters, 848).
 - Integrador.(Spectra-Physics, 4270).

- Ordenador.(Acer, 500 +).
- Columna μ Bondapack-C18, 25 cm X 39 mm I.D. (Waters).
- Precolumnas Newguard-C18, 15 X 3,2 mm (Applied Biosystems).
- Jeringa 100 μ l.(Hamilton)
- Agitador de tubos.(Ika-vibrax-vxr)

III.2.- METODOS

III.2.1.- ADAPTACION Y PREPARACION DE LOS ANIMALES

Las ovejas una vez desparasitadas, se estabularon en boxes para su adaptación durante las dos semanas previas al inicio del protocolo, siendo alimentadas con pienso concentrado, alfalfa y agua "ad libitum", mientras que los corderos, estabulados junto a sus madres, se alimentaban tan solo de la leche materna.

Durante el periodo de adaptación, ovejas y corderos fueron sometidos a exámenes clínicos y analíticas sanguíneas para verificar su estado de salud.

Con anterioridad a la intervención quirúrgica para la colocación de las cánulas ruminales permanentes en las ovejas, estas eran sometidas a ayuno durante 36 h, permitiéndoseles tan solo la ingestión de agua hasta las 12 h antes.

Tras la intervención quirúrgica, las ovejas se sometían a dieta líquida durante 24 h, pasando posteriormente a la dieta sólida. La motilidad ruminal siguió su curso normal a lo largo de todo el periodo post-operatorio (4 semanas), tras el cual, se realizaron las pruebas (Tabla III.1).

III.2.2.-COLOCACION QUIRURGICA DE LAS CANULAS RUMINALES

Las intervenciones quirúrgicas se realizaron en los quirófanos del Departamento de Cirugía y Reproducción de la Facultad de Veterinaria de la U.C.M..

Las técnicas utilizadas se basaron en las anteriormente descritas por KOMAREK, (1981) y BONAFONTE y col., (1985).

A los animales se les administraba mediante inyección intramuscular una mezcla de ketamina (2,2 mg/Kg) y xilacina (0,03 mg/Kg). Una vez tranquilizados, se preparaba la zona del flanco izquierdo de la pared abdominal para la laparotomía, realizándose la toilette quirúrgica.

Posteriormente, se efectuaba la anestesia regional de la pared abdominal izquierda mediante inyección de lidocaina por técnica paravertebral en las raíces nerviosas T-13, L-1 y L-2 (BERG, 1987). La anestesia de la zona a intervenir era reforzada por inyección subcutánea de lidocaina en un área que abarcaba la localización de las incisiones de la laparotomía. Desarrollo de la técnica quirúrgica ver Figura III.2.

Durante los 5 días post-intervención, se administró por oveja y día 2×10^6 U.I. de penicilina asociada a 2 g de estreptomicina via intramuscular.



Figura III.2.- Técnica quirúrgica de colocación de las cánulas ruminales.

III.2.3.- ADMINISTRACION Y TOMA DE MUESTRAS

III.2.3.1.- OBTENCION DE LAS MUESTRAS

Antes de de la iniciación de las pruebas se procedía a la colocación de los catéteres heparinizados en la vena yugular, los cuales se fijaban a la piel mediante puntos de sutura, se heparinizaban convenientemente y se cerraban con un obturador.

Las muestras de contenido ruminal eran obtenidas mediante sonda nasogástrica a través de la fístula ruminal.

III.2.3.2.- ADMINISTRACION INTRAVENOSA EN OVEJAS Y CORDEROS

Para la administración intravenosa de la norfloxacin se preparó una solución al 4 % que contenía: 1,5 g de norfloxacin, 7,5 ml de OHNa 2N, 0,5625 g de Na_2CO_3 y agua ultrapura estéril apirógena hasta un volumen de 37,5 ml. Antes de ser administrada esta solución era filtrada utilizando para ello filtros estériles de 0,22 μm de poro.

Las administraciones intravenosas en ambos grupos de edad, se realizaron a través de la vena yugular opuesta a la de colocación del catéter, realizándose ésta en forma de bolus (<1 min), siendo la dosis administrada en ambos grupos de 10 mg/kg.

La obtención de las muestras, se realizaba a través de los catéteres dispuestos en las venas yugulares, mediante jeringas estériles previamente heparinizadas. Los

volúmenes de extracción en todas las pruebas fueron de 2,5 ml en las ovejas y de 1 ml en los corderos.

Los tiempos de extracción de sangre en las ovejas fueron de 2, 5, 10, 15, 22, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 600, 1500 y 3000 min, mientras que las muestras de contenido ruminal fueron obtenidas a los 30, 60, 120, 180, 240, 360, 480, 600, 1440, 2160 y 3000 min.

Los tiempos de extracción de sangre en los corderos fueron de 2, 5, 10, 15, 22, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 600, 1500 y 2880 min.

III.2.3.3.- ADMINISTRACION ORAL EN OVEJAS Y CORDEROS

La administración de norfloxacin por vía oral se realizó a razón de 30 mg/kg en los corderos y de 60 mg/kg en las ovejas.

La solución utilizada para la administración oral, fue la misma, (al 4 %) que la utilizada para la intravenosa, empleando para ello una pistola de dosificación. Posteriormente a la administración del fármaco se suministraba un volumen equivalente de suero salino con el fin de evitar variaciones en las dosis.

Los tiempos de extracción en las ovejas, tanto para las muestras de sangre como para las de contenido ruminal, fueron de 20, 40, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480, 600, 720, 1440, 1740, 2040, y 2880 min; mientras que para los corderos, los tiempos de toma de muestras de sangre fueron de 10, 20, 30, 40, 50 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480, 600, 720, 1440, 1740, 2040 y 2880 min.

III.2.3.4.- ADMINISTRACION INTRAMUSCULAR EN OVEJAS

Para la administración intramuscular se preparó una solución al 5% constituida por: 1,5 g de norfloxacin, 5,17 ml de ácido acético glacial, 0,25 ml de alcohol bencílico y H₂O ultrapura estéril apirógena hasta un volumen de 25,8 ml y filtrada a través de un filtro purificador de muestras.

La norfloxacin era administrada por inyección intramuscular profunda en el músculo semitendinoso de una extremidad posterior, a dosis de 10 mg/kg .

Los tiempos de extracción de sangre fueron de 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 600, 720, 1440, 1680, 1920 y 2880 min. Mientras que, para esta vía los tiempos de obtención del contenido ruminal fueron de 15, 30, 60, 120, 180, 240, 360, 480, 600, 720, 1440, 1920 y 2880 min.

III.2.4.- PREPARACION DE LAS MUESTRAS PLASMATICAS Y RUMINALES

Tras la obtención de las muestras de sangre, éstas se centrifugaban a 2000 g durante 20 min, se separaba el plasma y se congelaban a -20 °C hasta su análisis, el cual se realizaba en un tiempo inferior a 2 semanas.

En el caso de las muestras de contenido ruminal, cuando se utilizaba el método de extracción directa, este se filtraba mediante interposición de varias gasas estériles, obteniéndose el líquido ruminal, que era procesado inmediatamente después de su obtención, la norfloxacin era extraída y las muestras se cuantificaban en las 24 horas siguientes.

Cuando se utilizaba el método de inactivación del contenido ruminal por choque térmico (ebullición - congelación), el contenido inmediatamente después de ser recolectado, era sometido a ebullición durante 2 min, para posteriormente, y una vez enfriado, ser congelado a -20°C durante al menos 24h.

III.2.5.- EXTRACCION DE LA NORFLOXACINA Y METODOLOGIA ANALITICA.

III.2.5.1.- EXTRACCION

El método utilizado para la extracción de la norfloxacin fue el mismo para las muestras de plasma y de líquido ruminal.

A 400 μl de plasma o líquido ruminal se le añadian 40 μl de P.I. (20 $\mu\text{g/ml}$ de enrofloxacin en ácido fórmico 0,1 N), de tal forma que su concentración en las muestras era de 2 $\mu\text{g/ml}$.

Tras la adición del patrón interno, la muestra era agitada en vortex durante 30 seg, para posteriormente añadir 400 μl de buffer fosfato (0,1 ml/l, pH 7,4) y volver a agitar la mezcla durante otros 30 seg.

A continuación se añadía a la muestra 8 ml de diclorometano, procediéndose a su agitación lenta durante 4 min, transcurridos los cuales, los tubos eran centrifugados a 2000 g durante 20 min.

La fase orgánica se traspasaba a otro tubo y se llevaba a sequedad a 60°C en atmosfera de nitrógeno, utilizándose para ello un desecador de muestras. El residuo obtenido era reconstituido con 200 μl de fase móvil e inyectado en el cromatógrafo.

III.2.5.2.- DETECCION

La detección y cuantificación de la norfloxacin se realizó mediante modificación de los metodos anteriormente descritos por MONTAY y col. (1983) y FORCHETTI, (1984), basados en la cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE).

Tras la realización de un espectro de absorción, se eligió la longitud de onda de 278 nm., que correspondía al pico de máxima absorbancia de la norfloxacin.

Las condiciones analíticas elegidas fueron las siguientes:

- COLUMNA: μ Bondapak C-18 (25cm X 39 mm I.D.) Waters Associates
- PRECOLUMNA: New-Guard C 18 (15 X 3,2 mm) Applied Biosystems
- FASE MOVIL: Acetonitrilo: Buffer (0,025 M KH_2PO_4 , 0,007 M ácido heptansulfónico a un pH de 2,2 con H_3PO_4 al 99,9 %). Siendo las proporciones de los componentes de la fase móvil de 30:70 para las muestras de plasma y de 26:74 para las muestras de contenido ruminal.
- FLUJO: 1,5 ml /minuto.(Isocratico).
- LONGITUD DE ONDA: 278nm.
- PATRON INTERNO: Enrofloxacin.
- TEMPERATURA: Ambiente.
- VOLUMEN DE MUESTRA INYECTADO: 20 μ l.
- AUS: 0,01.

III.2.5.3.- LINEALIDAD Y REPRODUCIBILIDAD

Para el estudio de la linealidad del método analítico se utilizaron patrones en un rango de concentraciones entre 0,025-400 $\mu\text{g/ml}$ para la norfloxacin y entre

0,25-15 $\mu\text{g/ml}$ para la enrofloxacin.

Las rectas de calibrado se realizaron entre 0,2-100 $\mu\text{g/ml}$ en sangre y entre 0,2-20 $\mu\text{g/ml}$ para el contenido ruminal, a partir de los valores obtenidos para la relación existente entre las diferentes concentraciones de norfloxacin y el cociente ABC norfloxacin/ABC enrofloxacin (2 $\mu\text{g/ml}$).

Todas las muestras fueron analizadas por duplicado determinandose la ABC media para cada producto.

La reproducibilidad del método analítico fue testada a partir del cálculo de los coeficientes de variación interdia e intradia. Las concentraciones de norfloxacin utilizadas (0,5, 2 y 5 $\mu\text{g/ml}$) eran preparadas cada día por cuadruplicado, calculandose los coeficientes de variación interdia e intradia de norfloxacin y enrofloxacin correspondientes a 12 medias.

III.2.5.4.- RECUPERABILIDAD

La recuperabilidad del método extractivo se calculó en un rango de concentraciones de norfloxacin y enrofloxacin de 0,5, 2, y 5 $\mu\text{g/ml}$ para la sangre y de 0,5, 2, 5, 10, 20 $\mu\text{g/ml}$ de norfloxacin para el contenido ruminal.

Los porcentajes de recuperación fueron calculados por comparación de las concentraciones obtenidas tras la extracción con las concentraciones reales esperables a partir de las rectas de calibrado.

Las medias de las recuperaciones para cada concentración fueron sometidas a un test de comparación de medias muestrales.

III.2.5.5.- LIMITE DE DETECCION

El límite de detección del método analítico fue calculado mediante la formula

$$LD = (K.SD)/m$$

donde:

LD = concentración mínima detectable

K = margen de seguridad (3)

SD = desviación standard obtenida para un blanco

m = pendiente de la curva de regresión relación
ABC/concentración.

III.2.6.- CALCULO DE LOS COEFICIENTES DE DISTRIBUCION RUMEN/PLASMA

La relación de concentraciones existente entre el rumen y el plasma (coeficiente de distribución rumen/plasma) fue calculada experimentalmente a partir de los resultados obtenidos para la administración intravenosa, intramuscular y oral en las ovejas, utilizando para ello el valor del cociente:

$$AUC_{t \text{ ruminal}} / AUC_{t \text{ plasmático}}$$

El valor de este coeficiente de distribución obtenido experimentalmente era comparado con el valor teórico esperable obtenido a partir de las ecuaciones clásicas de Henderson - Hasselbalch (1) y Jacobs (2) (BAGGOT, 1986).

En principio, era calculado el grado de ionización de la molécula de

norfloxacin en ambos líquidos biológicos a partir de la ecuación:

$$(1) \text{ pH} - \text{pK}_a = \log \frac{\text{concentración fracción no ionizada}}{\text{concentración fracción ionizada}}$$

para la forma básica y:

$$(1) \text{ pH} - \text{pK}_a = \log \frac{\text{concentración fracción ionizada}}{\text{concentración fracción no ionizada}}$$

para la forma ácida.

Utilizando para ello el programa Pharmacological Calculation Sistem.

Eligiendo el pK_a (6,2 ó 8,7) en el que la norfloxacin está más ionizada en el líquido biológico, como la situación más desfavorable, para el cálculo de las concentraciones y coeficientes de distribución teóricos esperables, que se realizaba utilizando las ecuaciones:

$$(2) \frac{\text{conc. fármaco en rumen}}{\text{conc. fármaco en plasma}} = \frac{1 + \text{antilog (pKa-pH ruminal)}}{1 + \text{antilog (pKa-pH}_{\text{plasma}})}$$

para el pKa básico y:

$$(2) \frac{\text{conc. fármaco en rumen}}{\text{conc. fármaco en plasma}} = \frac{1 + \text{antilog (pH}_{\text{rumen}}\text{-pKa)}}{1 + \text{antilog (pH}_{\text{plasma}}\text{-pKa)}}$$

para el pK_a ácido.

III.2.7.- TRATAMIENTO CINETICO

Los valores de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas y ruminales se ajustaron a modelos farmacocinéticos compartimentales y/o no compartimentales mediante el programa de ajuste farmacocinético PCNONLIN.

Puesto que este programa requiere el establecimiento previo del modelo a aplicar, el tratamiento de los resultados de las concentraciones plasmáticas y ruminales fue distinto.

Así, los valores de concentración plasmática se trataban de ajustar, siempre

que era posible, a distintos modelos compartimentales, mientras que las concentraciones ruminales, al no ser susceptibles de ser ajustadas a modelos compartimentales lo eran mediante un análisis no compartimental.

Los resultados obtenidos para cada oveja eran ajustados individualmente, para posteriormente obtener las medias de cada parámetro farmacocinético entre las (n) ovejas, comparandose por último los parámetros cinéticos obtenidos por ajuste de los valores medios de las concentraciones plasmáticas de las (n) ovejas con los obtenidos como media de los ajustes individuales de cada animal.

Los criterios utilizados a la hora de elegir el modelo farmacocinético al que mejor se ajustaban los datos obtenidos experimentalmente fueron: el coeficiente de correlación de Pearson (r) y el criterio de Akaike (AIC).

Según el coeficiente de correlación de Pearson, el modelo que mejor ajusta los datos obtenidos experimentalmente sería aquel que presentara un valor de este coeficiente más cercano a la unidad.

Por otro lado, el valor de AIC es quizá el criterio de elección de modelos más utilizado en la actualidad, el modelo que presenta un menor valor de AIC sería aquel que mejor ajuste los datos experimentales, además este criterio tiende siempre a favorecer la elección del modelo más sencillo, así:

$$AIC = n \cdot \ln \sum W_t (\text{obs} - \text{cal})^2 + 2p \sum W_t (\text{obs} - \text{cal})^2$$

donde:

n = número de datos

Wt = ponderación de los datos

obs = valores observados

cal = valores calculados

p = número de parametros utilizados para definir el modelo.

En nuestro caso, cuando los valores del coeficiente de correlación de Pearson eran próximos, elegíamos el que presentara menor valor de Akaike.

III.2.8.- METODOLOGIA ESTADISTICA

Los resultados obtenidos en este trabajo se expresan como media \pm E.S.M.

Para comprobar la significación de diferencias entre dos muestras independientes se utilizó la prueba U de Mann-Whitney y para más de dos muestras un análisis de varianza de una clasificación por rangos de Kruskal-Wallis. El nivel de significación utilizado fue $p < 0,05$.

Para establecer la relación entre dos parámetros se ha utilizado la regresión lineal por mínimos cuadrados, analizando la varianza y el coeficiente de correlación para ese ajuste, para determinar la significación de la asociación observada.

Los resultados fueron sometidos a un estudio estadístico básico calculando la media, E.S.M., desviación típica y C.V..

Todos los cálculos estadísticos se realizaron mediante el programa informático SIGMA.

IV.- RESULTADOS

IV.- RESULTADOS

IV.1.- METODOLOGIA ANALITICA

El método utilizado para la detección y cuantificación de la norfloxacin fue la cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE).

Tras la realización del espectro de absorción se eligió la longitud de onda de 278 nm a la cual la norfloxacin en solución de ácido fórmico 0,1 N, presentaba un pico de máxima absorbancia.

Con las condiciones analíticas descritas, el tiempo de retención de la norfloxacin fue de $3,5 \pm 0,5$ min en las muestras de plasma y de $5,30 \pm 0,40$ min en las muestras de contenido ruminal. La enrofloxacin presentaba unos tiempos de retención de $4,5 \pm 0,6$ min en plasma y de $7,05 \pm 0,65$ min en contenido ruminal.

En la Figura IV.1 se muestran los cromatogramas obtenidos para los blancos de plasma y contenido ruminal y patrones de norfloxacin y enrofloxacin en ambos líquidos biológicos. No detectándose ningún tipo de interferencia con los componentes de los frentes plasmáticos y ruminales.

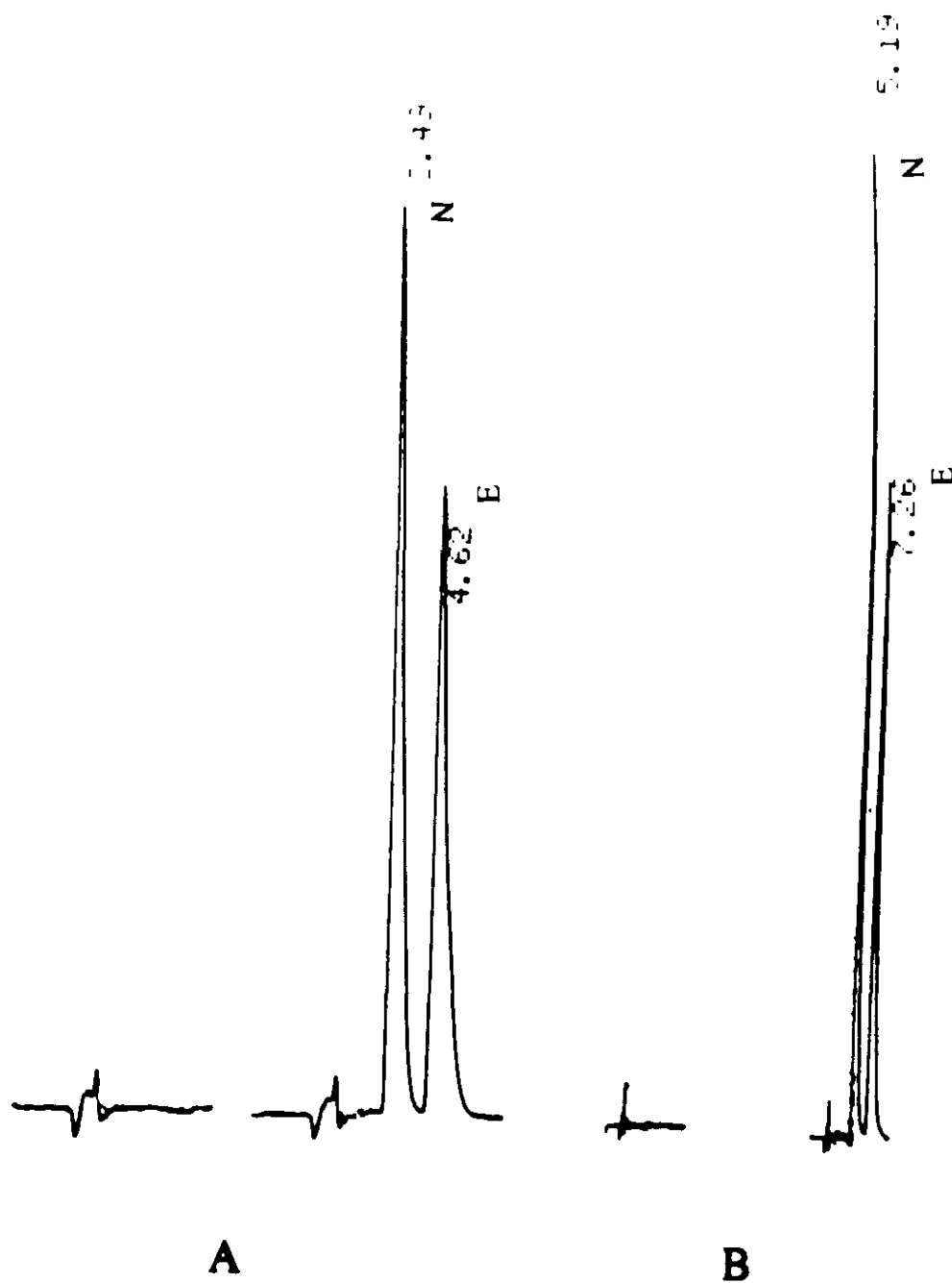


Figura IV.1.- Cromatogramas de la norfloxacin obtenidos bajo el método analítico descrito. (A) Plasma de oveja en ausencia y en presencia de (N) norfloxacin ($3 \mu\text{g/ml}$) y (E) enrofloxacin ($2 \mu\text{g/ml}$). (B) Contenido ruminal en ausencia y en presencia de (N) norfloxacin ($3 \mu\text{g/ml}$) y (E) enrofloxacin ($2 \mu\text{g/ml}$).

IV.1.1.- LINEALIDAD

La relación existente entre las distintas concentraciones de norfloxacin y el área bajo la curva cromatográfica (ABC), demostró ser lineal en un rango de concentraciones entre 0,025-400 $\mu\text{g/ml}$ de norfloxacin.

El ajuste por mínimos cuadrados de estos parámetros dio lugar a la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} \text{ABC} &= 150167 \text{ CC} + 596177 \\ (r^2 &= 0,993) \end{aligned}$$

Aún cuando la enrofloxacin fue utilizada como patrón interno en la cuantificación de la norfloxacin a concentración constante de 2 $\mu\text{g/ml}$ en la muestra, también fue testada su linealidad en un rango de concentraciones entre 0,025-15 $\mu\text{g/ml}$, obteniéndose la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} \text{ABC} &= 169712 \text{ CC} + 6074 \\ (r^2 &= 0,996) \end{aligned}$$

En las Figuras IV.2 y IV.3 se encuentra la representación gráfica del ajuste de las rectas y en las Tablas IV.1 y IV.2 los valores utilizados para su cálculo.

Norfloxacin ($\mu\text{g/ml}$)	ABC Media \pm E.S.M.
0,025	3232 \pm 940
0,05	5681 \pm 501
0,1	10868 \pm 1424
0,25	41392 \pm 2528
0,5	92127 \pm 5438
1	177193 \pm 9266
1,5	261203 \pm 28311
2,5	439112 \pm 5386
3,5	652400 \pm 8582
4,5	812696 \pm 6966
7,5	1397549 \pm 29379
10	1819327 \pm 37382
15	2839807 \pm 85656
25	4955764 \pm 241780
50	10002000 \pm 48359
100	20026110 \pm 13428
200	37470000 \pm 530154
400	59567417 \pm 317909

Tabla IV.1.- Areas bajo la curva de norfloxacin en soluci3n de 1cido f3rmico (0,1N) a diferentes concentraciones (0,025 y 400 $\mu\text{g/ml}$) y dias. (Los resultados se expresan como media \pm E.S.M.; n = 5-7).

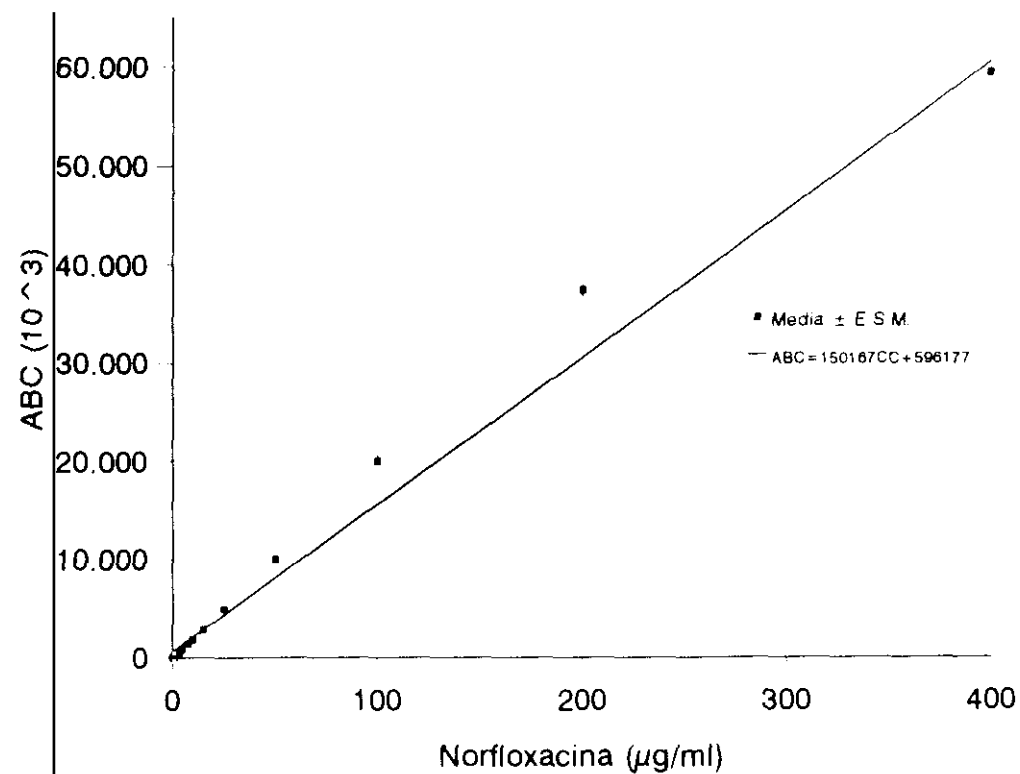


Figura IV.2.- Recta de calibración de la norfloxacin en solución de ácido fórmico (0,1N) obtenida mediante regresión lineal del area bajo la curva (ABC) frente a la concentración (0,025-400 µg/ml) ($r^2 = 0,993$).

Enrofloxacin ($\mu\text{g/ml}$)	ABC Media \pm E.S.M.
0,025	2661 \pm 592
0,05	4838 \pm 32
0,1	9158 \pm 1483
0,25	36345 \pm 3786
0,5	82209 \pm 1457
1	169075 \pm 6382
1,5	254802 \pm 37429
2,5	402973 \pm 3505
3,5	590270 \pm 6722
4,5	743634 \pm 6658
6	1032407 \pm 23146
7,5	1270194 \pm 29674
10	1653304 \pm 26832
15	2554850 \pm 73570

Tabla IV.2.- Areas bajo la curva de enrofloxacin en soluci3n de 3cido f3rmico (0,1N) a diferentes concentraciones (0,025 y 15 $\mu\text{g/ml}$) y d3as. (Los resultados se expresan como media \pm E.S.M.; n= 5-7).

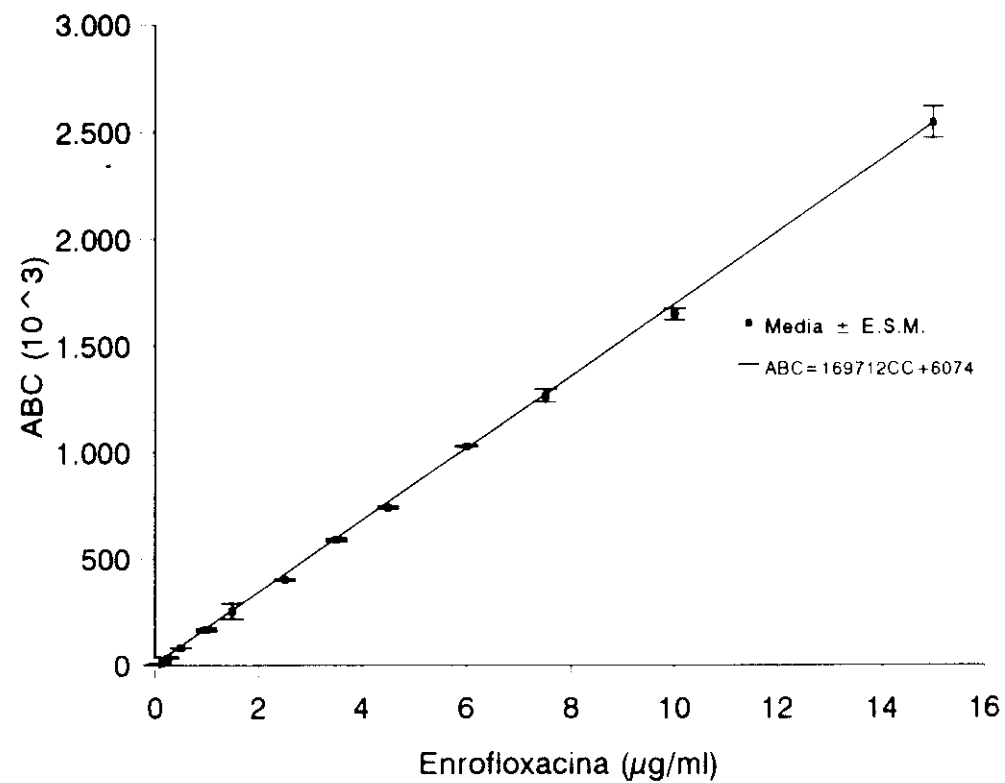


Figura IV.3.- Recta de calibración de la enrofloxacin en solución de ácido fórmico (0,1N) obtenida mediante regresión lineal del area bajo la curva (ABC) frente a la concentración (0,025-15 µg/ml) ($r^2 = 0,996$).

IV.1.2. - RECTAS DE CALIBRADO

La recta de calibración obtenida para la cuantificación de la norfloxacin en las muestras de plasma fue:

$$\text{ABC norfloxacin/ABC enrofloxacin} = 0,314 \text{ CC} - 0,059$$
$$(r^2 = 0,986)$$

La recta de calibración obtenida para las muestras de contenido ruminal fue:

$$\text{ABC norfloxacin/ABC enrofloxacin} = 0,263 \text{ CC} - 0,029$$
$$(r^2 = 0,993)$$

Presentándose en las figuras IV.4 y IV.5 la representación gráfica del ajuste de las rectas de calibrado y en las tablas IV.3 y IV.4 los valores utilizados para su cálculo.

Plasma	
Norfloxacina ($\mu\text{g/ml}$)	Media \pm E.S.M. ABC _{nor} /ABC _{entro}
0,2	0,0492 \pm 0,005
0,5	0,132 \pm 0,011
1	0,307 \pm 0,027
2	0,670 \pm 0,014
5	1,567 \pm 0,054
10	3,584 \pm 0,22
20	6,746 \pm 0,199
40	12,133 \pm 0,705
80	25,745 \pm 1,156
100	30,970 \pm 1,550

Tabla IV.3.- Cocientes medios entre las áreas bajo curva de norfloxacina y de patrón interno (enrofloxacina: 2 $\mu\text{g/ml}$) para distintas concentraciones de norfloxacina en plasma (0,2-100 $\mu\text{g/ml}$). (Los resultados se expresan como media \pm E.S.M.; n= 8).

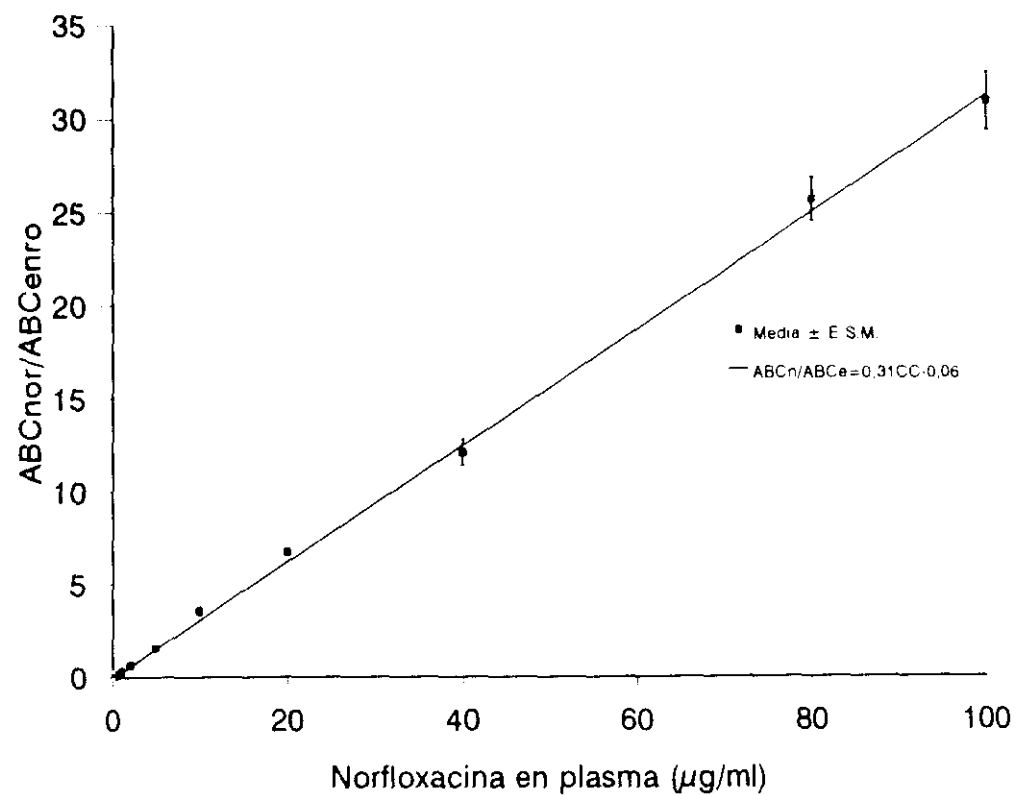


Figura IV.4.- Recta de calibración mediante regresión lineal de la concentración de norfloxacin en plasma a partir de los valores obtenidos para la relación existente entre las diferentes concentraciones de norfloxacin y el cociente ABC norfloxacin/ABC enrofloxacin ($2 \mu\text{g/ml}$) ($r^2 = 0,986$).

Contenido Ruminal	
Norfloxacina ($\mu\text{g/ml}$)	ABCnor/ABCenro Media \pm E.S.M.
0,2	0,043 \pm 0,005
0,5	0,132 \pm 0,009
2	0,475 \pm 0,017
5	1,314 \pm 0,049
10	2,520 \pm 0,051
20	5,288 \pm 0,113

Tabla IV.4.- Cocientes medios entre las áreas bajo curva de norfloxacina y de patrón interno (enrofloxacin: 2 $\mu\text{g/ml}$) para distintas concentraciones de norfloxacina en contenido ruminal (0,2-20 $\mu\text{g/ml}$). (Los resultados se expresan como media \pm E.S.M.; n= 7).

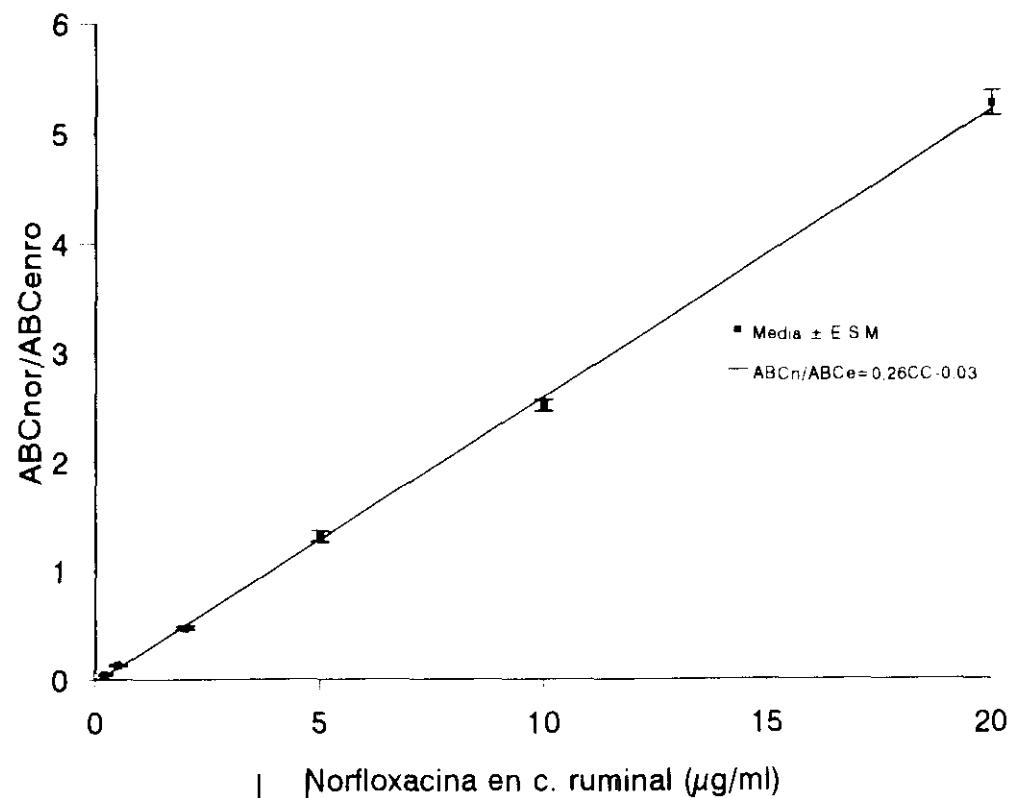


Figura IV.5.- Recta de calibración mediante regresión lineal de la concentración de norfloxacin en contenido ruminal a partir de los valores obtenidos para la relación existente entre las diferentes concentraciones de norfloxacin y el cociente ABC norfloxacin/ABC enrofloxacin ($2 \mu\text{g/ml}$) ($r^2 = 0,993$).

IV.1.3.- REPRODUCIBILIDAD DEL METODO ANALITICO

El cálculo de los coeficientes de variación interdía e intradía dio lugar a los siguientes resultados:

	<u>Norfloxacina</u>	<u>Enrofloxacin</u>
	Media C.V. \pm E.S.M	Media C.V. \pm E.S.M.
C.V. _{INTRA}	2,39 % \pm 1,07	2,76 % \pm 1,06
C.V. _{INTER}	6,69 % \pm 2,29	5,86 % \pm 3,27

Presentándose los valores medios para cada concentración y día utilizados para su cálculo, en las Tablas IV.5, IV.6, IV.7 y IV.8, no mostrando los resultados diferencias estadísticamente significativas entre las tres concentraciones testadas.

		Coeficiente de Variación (%)			
Norfloxacina ($\mu\text{g/ml}$)		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
0,5		5,53	0,32	12,72	0,03
2		4,13	0,35	0,63	3,26
5		0,31	0,15	0,43	0,82
Media:		3,32	0,27	4,59	1,37

		Media \pm E.S.M.: 2,39 \pm 1,07			

Tabla IV.5.- Variabilidad intradia de las areas bajo la curva de norfloxacina a distintas concentraciones. Los resultados se expresan como media de 3 valores.

		Coeficiente de Variación (%)			
Enrofloxacin ($\mu\text{g/ml}$)		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
0,5		9,73	4,21	10,24	0,08
2		4,20	0,79	0,02	1,87
5		1,22	0,32	0,25	0,19
Media:		4,93	1,77	3,50	0,71
		Media \pm E.S.M.: 2,76 \pm 1,06			

Tabla IV.6.- Variabilidad intradia de las areas bajo la curva de enrofloxacin a distintas concentraciones. Los resultados se expresan como media de 3 valores.

Norfloxacin ($\mu\text{g/ml}$)	ABC				C.V. (%)
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	
0,5	77874	91702	100202	99583	11,25
2	366083	396710	378569	397527	3,95
5	877373	955819	946894	986357	4,88
Media \pm E.S.M.					6,69 \pm 2,29

Tabla IV.7.- Variabilidad de las areas bajo la curva a distintas concentraciones de norfloxacin entre los diferentes dias.
(Los resultados para cada concentraci3n se expresan como la media de 3 valores).

Enrofloxacin ($\mu\text{g/ml}$)	ABC				C.V. (%)
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	
0,5	68562	76718	82704	92089	12,39
2	343456	354364	350955	361901	2,17
5	838386	881101	896941	891191	3,02
Media \pm E.S.M.:					5,86 \pm 3,27

Tabla IV.8.- Variabilidad de las áreas bajo la curva a distintas concentraciones de enrofloxacin entre los diferentes días.
(Los resultados para cada concentración se expresan como la media de 3 valores).

IV.1.4.- RECUPERABILIDAD

Los resultados del estudio de la recuperabilidad se muestran en las Tablas IV.9, IV.10, IV.11, IV.12 y IV.13.

La recuperación de la norfloxacin a partir del plasma fue del $67,54 \pm 1,14$ %, en el contenido ruminal, se obtuvo el $52,18 \pm 2,24$ % en la extracción directa a partir de las muestras en fresco y del $52,90 \pm 1,80$ %, mediante el método de inactivación por choque térmico, no habiendo diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de recuperación obtenidos para los dos métodos testados.

La recuperación de la enrofloxacin en el plasma fue de $103,29 \pm 1,51$ %, mientras que en el contenido ruminal, con el método de extracción directa fue de $97,61 \pm 1,97$ %.

Norfloxacin (ug/ml)	Recuperación (%) (plasma)						Media ± E.S.M.
	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	
0,5	72,7	61,6	66,2	71,5	72,6	77,7	70.52 ± 1.73
	72,7	60,1	64,8	66,9	70,3	84,8	
2	72,4	53,0	69,0	74,4	69,3	77,5	67.80 ± 2.33
	67,8	60,5	66,5	66,6	56,5	80,1	
5	68,8	62,1	70,2	65,8	61,4	70,5	63.80 ± 1.50
	53,6	57,0	67,5	65,3	62,8	60,8	
Media ± E.S.M.							67.54 ± 1.14

Tabla IV.9.- Recuperación de la norfloxacin (%) a partir de plasma de oveja para diferentes concentraciones y distintos dias. (Valores individuales separados por dias, media ± E.S.M. para cada concentraci3n).

Enrofloxacin (ug/ml)	Recuperación (%) (plasma)				Media ± E.S.M.
	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	
0,5	109,75	105,75	106,5	103,85	106,46 ± 1,22
2	102,85	104,85	105,05	99,40	103,03 ± 1,31
5	104,55	106,65	96,00	94,55	100,43 ± 0,25
			Media ± E.S.M.:		103,29 ± 1,51

Tabla IV.10.- Recuperación de la enrofloxacin (%) a partir de plasma de oveja para diferentes concentraciones y distintos dias. (Valores individuales separados por dias, media ± E.S.M para cada concentraci3n).

Norfloxaciona (ug/ml)	Recuperación (%) (C. ruminal-método directo)			
	Día 1	Día 2	Día 3	Media \pm E.S.M.
0,5	52,91	74,05	66,51	64,49 \pm 6,18
2	43,35	51,40	52,61	49,12 \pm 2,91
5	42,73	54,85	54,65	50,74 \pm 4,01
10	48,80	55,73	44,50	49,68 \pm 3,27
20	44,00	49,85	46,77	46,87 \pm 1,68
Media \pm E.S.M.:				52,18 \pm 2,24

Tabla IV. 11.- Recuperación de la norfloxacin (%) a partir de contenido ruminal de oveja para diferentes concentraciones y distintos días mediante el metodo de "extración directa". (Valores individuales separados por días, Media \pm E.S.M. para cada concentración).

Norfloxaciona (ug/ml)	Recuperación (%) (C. ruminal-método choque térmico)			
	Día 1	Día 2	Día 3	Media \pm E.S.M.
2	56,20	40,89	56,85	51,30 \pm 3,86
5	59,22	46,55	45,71	50,55 \pm 3,11
10	58,80	48,85	43,60	50,42 \pm 2,83
20	68,40	61,25	48,42	59,35 \pm 3,97
Media \pm E.S.M.:				52,90 \pm 1,80

Tabla IV.12.- Recuperación de la norfloxacin (%) a partir de contenido ruminal de oveja para diferentes concentraciones y distintos días mediante el método de inactivación por choque térmico. (Valores individuales separados por días, Media \pm E.S.M. para cada concentración).

Enrofloxacin (ug/ml)	Recuperación (%) (c. ruminal-metodo directo)			
	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4
2	109,23	109,33	99,44	85,33
	94,80	98,75	92,74	94,06
	89,58	83,78	114,80	98,84
Media ± E.S.M.	98,10 ± 6,10	97,29 ± 7,42	102,32 ± 6,53	92,74 ± 3,95
	Media ± E.S.M.:		97,61 ± 1,97	

Tabla IV.13.- Recuperación de la enrofloxacin (%) a partir de contenido ruminal de oveja en diferentes dias mediante el metodo de "extracción directa". (Valores individuales separados por dias, medias ± E.S.M.).

IV.1.5.- LIMITE DE DETECCION

Los límites de detección del método analítico utilizado para ambas quinolonas en los dos líquidos biológicos estudiados fueron:

	<u>Plasma</u>	<u>Contenido ruminal</u>
Norfloxacin	0,098 $\mu\text{g/ml}$	0,109 $\mu\text{g/ml}$
Enrofloxacin	0,013 $\mu\text{g/ml}$	0,059 $\mu\text{g/ml}$

IV.2.- COEFICIENTES DE IONIZACION Y DISTRIBUCION RUMEN/PLASMA

Los valores de los coeficientes de ionización de la molécula de norfloxacin en los dos líquidos biológicos estudiados se presentan en la Tabla IV.22.

Los valores de los coeficientes de distribución rumen/plasma calculados experimentalmente a partir de los resultados obtenidos junto con sus valores teóricos esperables se presentan en la Tabla IV.21.

	pKa	pH	$\frac{\text{Forma ionizada}}{\text{Forma no ionizada}}$
RUMEN	8,7	6,0	501,19
	6,2	6,0	0,63
PLASMA	8,7	7,5	15,85
	6,2	7,5	19,95

Tabla IV.22.- Valores de los grados de ionización de la molécula de norfloxacin en los líquidos biológicos estudiados a partir de la ecuación de Henderson-Hasselbach.

Via de administración	Coeficiente de distribución experimental	Coeficiente de distribución teórico
Intravenosa	0,24	0,07
Intramuscular	0,39	0,07
Oral	402,28	9,82

Tabla IV.21.- Coeficientes de distribución Rumen/Plasma obtenidos experimental y teóricamente según la via de administración en ovejas.

IV.3.- ADMINISTRACION INTRAVENOSA OVEJAS

Los valores de la evolución de las concentraciones plasmáticas de norfloxacin en el tiempo tras la administración intravenosa rápida a 5 ovejas, aparecen en la Tabla IV.14 y la representación gráfica de las mismas en las Figuras IV.6 y IV.12.

La observación de las curvas obtenidas, nos permite determinar un rápido descenso de las concentraciones plasmáticas de la norfloxacin durante los primeros 30 min post-administración, que pasa de $53,74 \pm 4,05 \mu\text{g/ml}$ a los dos minutos a $10,03 \pm 0,53 \mu\text{g/ml}$ a los 30 min. Sin embargo, la eliminación de la norfloxacin es muy lenta, encontrándose niveles a las 24 h de $2,49 \pm 0,99 \mu\text{g/ml}$ que se mantienen a las 50 h post-administración, todavía en un rango de $0,76 \pm 0,09 \mu\text{g/ml}$.

Los resultados de concentración plasmática frente al tiempo obtenidos para cada oveja, fueron ajustados a un modelo bicompartimental abierto y a un modelo tricompartmental con eliminación de primer orden desde el compartimento central.

Los criterios utilizados para determinar el mejor modelo de ajuste (r y AIC), nos permitieron seleccionar el modelo tricompartmental como aquel que mejor representa el comportamiento cinético de la norfloxacin administrada por vía intravenosa en ovejas (Tabla IV.15). Presentándose los valores de los principales parámetros farmacocinéticos obtenidos tras el ajuste tricompartmental (Tabla IV.16) y bicompartimental (Tabla IV.17) de los resultados.

No encontrándose diferencias estadísticamente significativas al comparar los valores medios de los parámetros farmacocinéticos a partir de las concentraciones individuales, con los obtenidos a partir de la media de las concentraciones de las 5 ovejas (Tabla IV.18).

Algunas ovejas mostraron cierto grado de somnolencia y apatía tras la administración intravenosa de la norfloxacin, si bien, esta desaparecía espontáneamente a los 30 min post-administración y no se presentaba cuando la administración se realizaba por otras vías.

Tiempo (min)	Concentración Plasmática (µg/ml)					Media ± E.S.M.
	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E	
2	-----	59.04	49.39	44.63	61.93	53.74 ± 4.05
5	29.91	32.38	27.61	24.84	28.47	28.58 ± 1.29
10	-----	21.97	15.06	12.95	16.37	16.59 ± 1.93
15	13.15	16.56	10.76	13.82	14.88	13.83 ± 0.96
22	9.19	16.21	10.47	10.58	13.42	12.67 ± 1.36
30	9.27	11.59	8.69	9.67	10.91	10.03 ± 0.53
45	6.28	11.08	7.61	9.03	10.76	8.95 ± 0.91
60	6.73	11.11	6.97	9.25	9.66	8.75 ± 0.83
90	5.96	9.33	5.95	8.92	8.72	7.78 ± 0.75
120	-----	9.87	6.03	8.83	7.96	8.18 ± 0.80
180	4.62	8.72	5.54	6.85	8.43	6.83 ± 0.80
240	3.89	7.45	5.85	7.89	8.60	6.74 ± 0.84
360	3.06	8.24	5.44	6.97	8.13	6.38 ± 0.97
480	2.32	6.94	5.09	6.73	7.80	5.79 ± 0.97
600	1.97	6.75	4.63	6.50	6.91	5.36 ± 0.94
1440	0.54	3.21	3.72	-----	-----	2.49 ± 0.99
1500	-----	-----	-----	3.67	3.25	3.46 ± 0.21
3000	-----	0.92	0.82	0.82	0.49	0.76 ± 0.09

Tabla IV.14.- Concentraciones plasmáticas de norfloxacin (µg/ml) obtenidas a diferentes tiempos tras la administración intravenosa a ovejas (10 mg/kg). (Valores individuales; media ± E.S.M.; n=5).

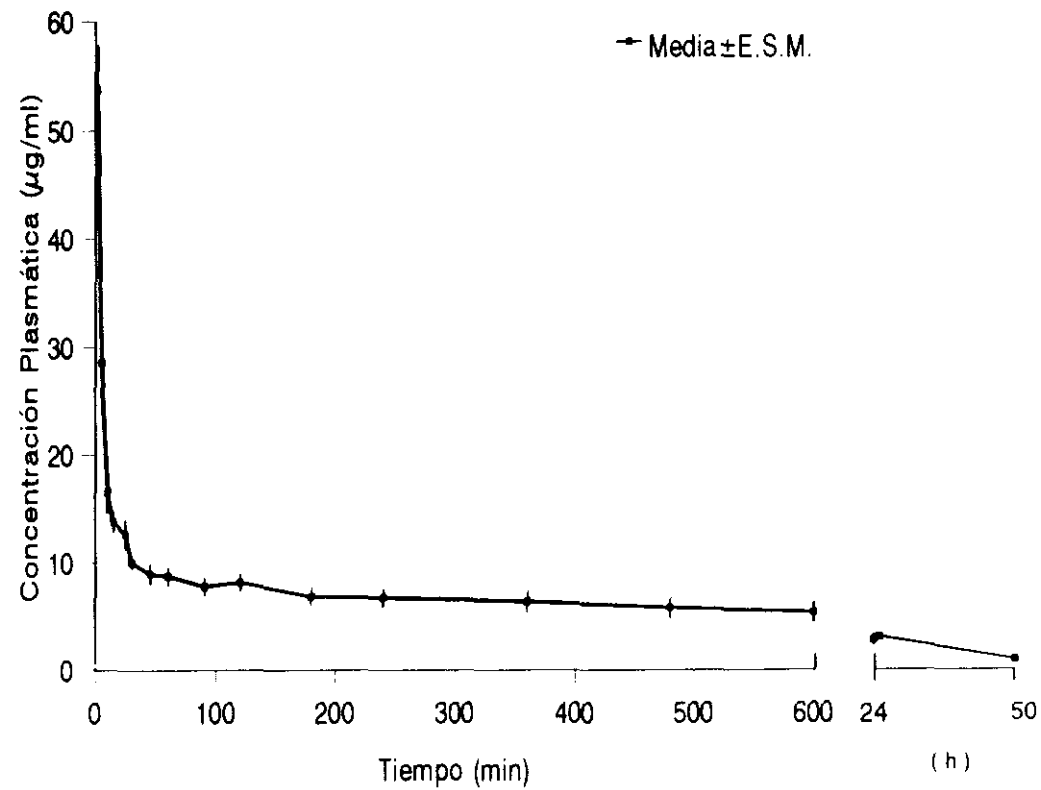


Figura IV.6.- Representación gráfica de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas medias de norfloxacin tras la administración intravenosa a ovejas (10 mg/kg). (Media \pm E.S.M.; $n=5$).

OVEJA	BICOMPARTIMENTAL		TRICOMPARTIMENTAL	
	r	AIC	r	AIC
A	0,995	-5,18	0,999	16,28
B	0,984	16,33	0,999	6,87
C	0,993	21,28	0,999	15,39
D	0,995	16,65	0,997	16,56
E	0,992	9,30	0,999	7,37

Tabla IV.15.- Valores individuales de AIC y r obtenidos para el ajuste bicompartimental y tricompartmental de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas de norfloxacin tras su administración intravenosa a ovejas.

PARAMETROS CINETICOS (intravenosa)	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E	Media \pm E.S.M
A ($\mu\text{g/ml}$)	53.11	79.07	65.76	64.99	108.11	74.21 \pm 9.42
B ($\mu\text{g/ml}$)	16.89	21.07	8.73	8.21	12.17	13.41 \pm 2.46
C ($\mu\text{g/ml}$)	7.12	10.30	6.78	9.41	10.58	8.78 \pm 0.77
α (10^{-3})(1/min)	313.90	473.95	314.98	406.63	488.17	399.53 \pm 37.37
β (10^{-3})(1/min)	71.44	70.53	49.00	78.76	75.84	69.12 \pm 5.25
γ (10^{-3})(1/min)	2.33	0.80	0.67	0.78	0.98	1.11 \pm 0.31
C _{max} ($\mu\text{g/ml}$)	77.12	110.44	81.28	82.61	130.86	96.46 \pm 10.43
K ₂₁ (10^{-3})(1/min)	138.73	173.85	89.55	129.61	130.88	132.52 \pm 13.42
K ₃₁ (10^{-3})(1/min)	16.91	18.58	14.94	28.77	23.69	20.57 \pm 2.51
K ₁₀ (10^{-3})(1/min)	22.32	8.32	7.76	6.74	11.76	11.38 \pm 2.86
K ₁₂ (10^{-3})(1/min)	95.12	198.76	121.59	138.84	18.21	147.28 \pm 19.12
K ₁₃ (10^{-3})(1/min)	114.60	145.77	130.81	182.21	216.57	157.99 \pm 18.42
T _{1/2K10} (min)	31.05	83.26	89.29	102.72	58.92	73.05 \pm 12.67
T _{1/2α} (min)	2.21	1.46	2.20	1.70	1.42	1.80 \pm 0.17
T _{1/2β} (min)	9.70	9.83	14.14	8.80	9.14	10.32 \pm 0.97
T _{1/2γ} (min)	296.85	861.78	1030.21	882.29	703.54	754.93 \pm 125.67
V _{dc} (l/kg)	0.13	0.09	0.12	0.12	0.07	0.11 \pm 0.41
V _{dee} (l/kg)	1.10	0.90	1.37	1.02	0.88	1.05 \pm 0.09
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	3455.13	13266.75	10469.88	12242.60	11124.23	10111.40 \pm 1731.34
AUC _t ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	3635.30	17706.31	10747.81	12661.81	12653.50	10480.94 \pm 1751.60
CI (10^{-3})(l/kg/min)	2.90	0.75	0.95	0.82	0.90	1.26 \pm 0.41
MRT (min)	379.10	1200.00	1431.75	1245.55	980.37	1047.02 \pm 181.75

Tabla IV.16.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo tricompartmental de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas tras la administración intravenosa de norfloxacin a ovejas (10 mg/kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

PARAMETROS CINETICOS (intravenosa)	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E	Media \pm E.S.M.
A ($\mu\text{g/ml}$)	34,47	51,85	52,94	56,71	76,91	54,57 \pm 6,77
B ($\mu\text{g/ml}$)	6,23	10,63	7,14	9,70	11,00	8,94 \pm 0,95
α (10^{-3})(1/min)	92,46	139,64	174,68	257,58	260,86	185,04 \pm 32,98
β (10^{-3})(1/min)	1,79	0,82	0,70	0,80	1,00	1,02 \pm 0,19
C _{max} ($\mu\text{g/ml}$)	40,71	62,49	60,09	66,42	87,91	63,52 \pm 7,53
K ₂₁ (10^{-3})(1/min)	15,67	24,45	21,39	38,32	33,52	26,67 \pm 4,10
K ₁₀ (10^{-3})(1/min)	10,53	4,69	5,70	5,38	7,81	6,82 \pm 1,06
K ₁₂ (10^{-3})(1/min)	68,04	111,32	148,30	214,68	220,54	152,57 \pm 29,44
T _{1/2} K ₁₀ (min)	65,80	147,67	121,68	128,77	88,78	110,54 \pm 14,68
T _{1/2} α (min)	7,50	4,96	3,97	2,69	2,66	4,35 \pm 0,89
T _{1/2} β (min)	388,20	843,40	993,85	865,57	690,97	756,39 \pm 103,85
V _{dc} (l/kg)	0,24	0,16	17	0,15	0,11	0,17 \pm 0,02
V _{dee} (l/kg)	1,31	0,89	1,32	0,99	86	1,07 \pm 0,10
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	3864,54	13312,73	10548,67	12338,63	11260,43	10265,00 \pm 1667,72
Cl (10^{-3})(l/kg/min)	2,58	0,75	0,94	0,81	0,88	1,19 \pm 0,35
MRT (min)	507,06	1183,03	1392,80	1226,53	970,86	1056,05 \pm 152,84

Tabla IV.17.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo bicompartimental de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas tras la administración intravenosa de norfloxacin a ovejas (10 mg/kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

PARAMETROS CINETICOS (intravenosa)	
A ($\mu\text{g/ml}$)	73,08
B ($\mu\text{g/ml}$)	13,41
C ($\mu\text{g/ml}$)	8,40
$\alpha(10^{-3})(1/\text{min})$	388,81
$\beta(10^{-3})(1/\text{min})$	64,68
$\gamma(10^{-3})(1/\text{min})$	0,74
C _{max} ($\mu\text{g/ml}$)	94,89
K ₂₁ ($10^{-3})(1/\text{min})$	127,52
K ₃₁ ($10^{-3})(1/\text{min})$	18,08
K ₁₀ ($10^{-3})(1/\text{min})$	8,12
K ₁₂ ($10^{-3})(1/\text{min})$	149,16
K ₁₃ ($10^{-3})(1/\text{min})$	151,35
T _{1/2} K ₁₀ (min)	85,29
T _{1/2} α (min)	1,78
T _{1/2} β (min)	10,72
T _{1/2} γ (min)	930,46
V _{dc} (l/kg)	0,10
V _{dee} (l/kg)	1,11
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	11675,84
CI ($10^{-3})(\text{l/kg/min})$	0,85
MRT (min)	1297,24
r	0,999
AIC	41,88

Tabla IV.18.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo tricompartmental de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas medias (n=5) tras la administración intravenosa de norfloxacin a ovejas (10 mg/kg).

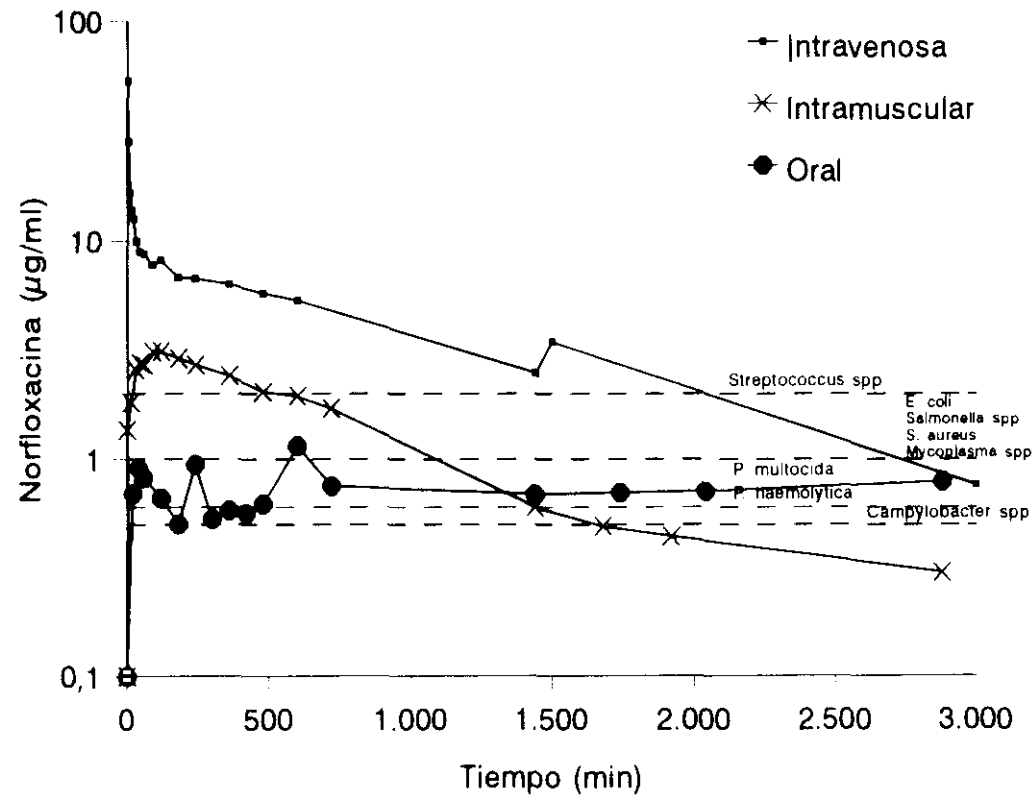


Figura IV.12.- Representación semilogarítmica de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas medias de norfloxacin tras la administración intravenosa, intramuscular y oral a ovejas. (Medias \pm E.S.M.; $n=5$).

IV.3.1.- CONCENTRACIONES RUMINALES DE NORFLOXACINA TRAS LA ADMINISTRACION INTRAVENOSA A OVEJAS

En la Tabla IV.19 se presentan los valores de las concentraciones ruminales de norfloxacin a tras la administraci3n intravenosa, mientras que en la Figura IV.7 se muestran las representaciones de los niveles simult3neos de norfloxacin en el plasma y en el contenido ruminal para las ovejas estudiadas.

La norfloxacin fue detectada en el contenido ruminal de 4 de las 5 ovejas estudiadas, siendo en tres de ellas detectable 2 h post-administraci3n en un rango entre 0,19-0,45 $\mu\text{g/ml}$.

Las m3ximas concentraciones de norfloxacin se obtuvieron en todos los animales entre las 24 y las 50 h post-administraci3n, y se situaban en un rango entre 0,54 y 2,30 $\mu\text{g/ml}$.

Los valores obtenidos de concentraci3n ruminal frente al tiempo no fueron susceptibles de ser ajustados a un modelo compartimental, por lo que se opt3 por un analisis no compartimental de los resultados. Los par3metros farmacocin3ticos obtenidos para cada oveja, se muestran en la Tabla IV.20.

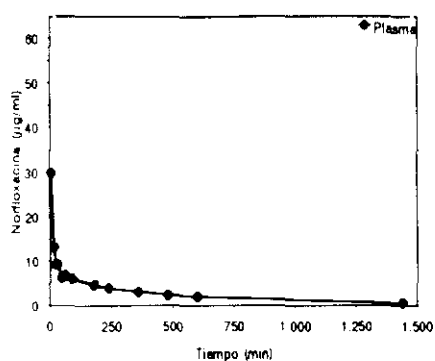
La relaci3n de concentraciones de norfloxacin entre el l3quido ruminal y el plasma calculada experimentalmente a partir de la relaci3n $AUC_{\text{RUMINAL}}/AUC_{\text{PLASMA}}$ toma valores de 0,24 tras la administraci3n intravenosa, mientras que el valor te3rico esperable calculado es de 0,07 (Tabla IV.21).

Tiempo (min)	Concentración Ruminal ($\mu\text{g/ml}$)				
	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E
30	----	----	----	----	----
60	----	----	----	0,13	----
120	----	0,45	----	0,23	----
180	----	1,32	----	0,17	----
240	----	0,26	----	0,34	0,03
360	----	0,54	----	0,42	0,15
480	----	1,30	----	0,53	0,53
600	----	1,08	----	0,57	0,46
1440	----	2,30	0,90	0,80	0,87
2160	----	2,11	0,54	0,99	1,17
3000	----	1,47	1,17	0,99	0,80

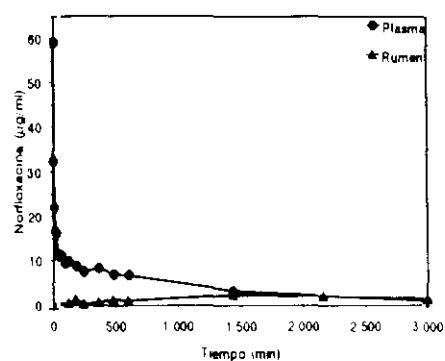
Tabla IV.19.- Concentraciones ruminales de norfloxacin ($\mu\text{g/ml}$) obtenidas a diferentes tiempos tras la administración intravenosa a ovejas (10 mg/kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

PARAMETROS CINETICOS (intravenosa-c. ruminal)	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E	Media \pm E.S.M.
Tmax (min)	1440,00	3000,00	2160,00	2160,00	2040,00 \pm 289,00
Cmax (μ g/ml)	2,30	1,17	0,99	1,17	1,28 \pm 0,26
AUCt (μ g*min/ml)	4939,50	1884,60	2262,00	2235,00	2590,32 \pm 598,83
MRTt (min)	1705,53	2007,63	1785,16	1846,61	1825,38 \pm 50,77

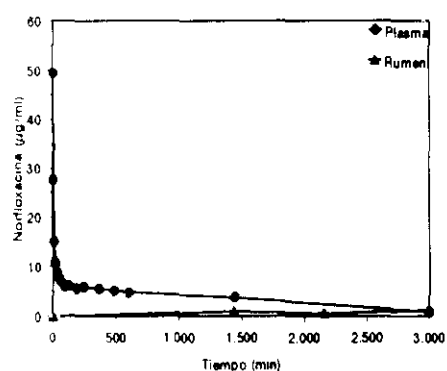
Tabla IV.20.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo no compartimental de la evolución en el tiempo de las concentraciones ruminales tras la administración intravenosa de norfloxacin a ovejas (10 mg/kg).(Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).



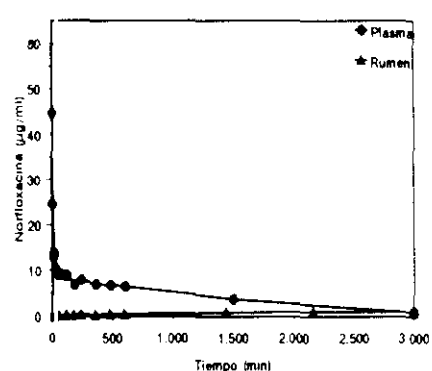
OVEJA A



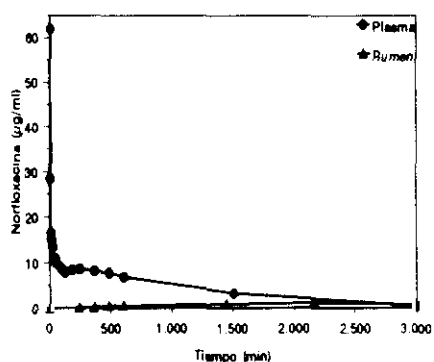
OVEJA B



OVEJA C



OVEJA D



OVEJA E

Figura IV.7.- Representación gráfica de la evolución en el tiempo de las concentraciones simultáneas de norfloxacin en plasma y en contenido ruminal de las ovejas estudiadas (n=5) tras la administración intravenosa (10 mg/kg).

IV.4.- ADMINISTRACION INTRAMUSCULAR EN OVEJAS

Tras la administración intramuscular se obtuvieron las concentraciones plasmáticas que se muestran en la Tabla IV.23 y su representación gráfica en las Figuras IV.8 y IV.12.

Las máximas concentraciones plasmáticas en la mayoría de las ovejas se obtienen alrededor de los 60 min post-administración.

La eliminación de la norfloxacin tras su administración intramuscular es, sin embargo, muy lenta encontrándose niveles a las 48 h post-administración de $0,30 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$ de media.

Los valores de concentración plasmática frente al tiempo obtenidos para cada oveja fueron ajustados a un modelo monocompartimental con absorción y eliminación de primer orden (Tabla IV.24) y a un modelo no compartimental (Tabla IV.25).

La biodisponibilidad obtenida tras la administración intramuscular de norfloxacin fue del $31,62 \pm 6,19 \%$ (Tabla IV.26).

Tiempo (min)	Concentración Plasmática ($\mu\text{g/ml}$)					Media \pm E.S.M.
	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E	
5	1,24	----	0,35	----	2,48	1,36 \pm 0,62
15	1,37	1,87	0,89	----	3,14	1,82 \pm 0,48
30	1,98	2,07	2,07	3,88	2,87	2,57 \pm 0,36
45	2,06	2,07	2,39	3,86	3,41	2,76 \pm 0,37
60	2,16	2,26	2,61	3,91	2,58	2,70 \pm 0,31
90	----	2,58	3,75	3,80	2,26	3,10 \pm 0,40
120	----	2,58	4,20	3,56	2,14	3,12 \pm 0,47
180	----	2,67	4,29	2,81	1,82	2,90 \pm 0,51
240	2,11	2,70	3,91	3,07	1,77	2,71 \pm 0,37
360	1,84	2,19	3,88	2,67	1,54	2,42 \pm 0,41
480	1,45	1,65	3,21	2,58	1,30	2,04 \pm 0,37
600	----	1,75	2,61	2,37	1,09	1,95 \pm 0,34
720	----	1,43	2,26	2,09	1,07	1,71 \pm 0,28
1440	0,52	0,44	0,92	0,71	0,42	0,60 \pm 0,09
1680	----	0,39	0,56	0,63	0,38	0,49 \pm 0,06
1920	----	0,37	0,50	0,54	0,35	0,44 \pm 0,05
2880	----	0,23	0,28	0,45	0,25	0,30 \pm 0,05

Tabla IV.23.- Concentraciones plasmáticas de norfloxacin ($\mu\text{g/ml}$) obtenidas a diferentes tiempos tras la administración intramuscular a ovejas (10 mg/kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

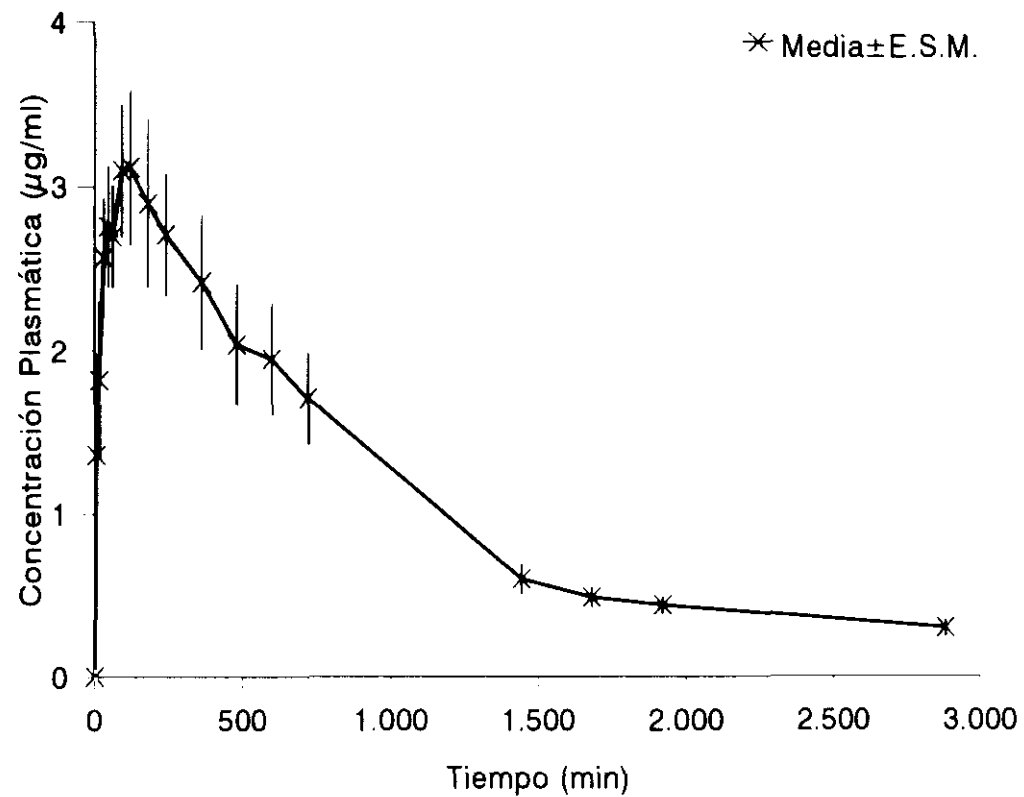


Figura IV.8.- Representación gráfica de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas medias de norfloxacin tras la administración intramuscular a ovejas (10 mg/kg). (Media \pm E.S.M.; n=5).

PARAMETROS CINETICOS (intramuscular)	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E	Media \pm E.S.M.
Vol/F (ml/kg)	4,41	3,48	1,82	2,51	3,20	3,08 \pm 0,43
K01 (10^{-3})(1/min)	82,76	44,13	13,84	203,99	326,40	134,22 \pm 57,90
K10 (10^{-3})(1/min)	0,77	0,92	1,36	1,00	2,10	1,23 \pm 0,23
AUCi ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$)	2947,86	3118,57	4048,36	3962,43	1480,49	3111,54 \pm 463,07
T $\frac{1}{2}$ K01 (10^{-3})(1/min)	8,37	15,70	50,08	3,40	2,12	15,93 \pm 8,86
T $\frac{1}{2}$ K10 (10^{-3})(1/min)	900,55	752,74	510,01	689,08	328,66	636,20 \pm 99,18
Tmax (min)	57,05	89,55	185,95	26,17	15,55	74,85 \pm 30,62
Cmax ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	2,17	2,64	4,27	3,88	3,02	3,19 \pm 0,38
r	0,911	0,963	0,994	0,989	0,975	0,996 \pm 0,01
AIC	-3,92	4,39	-6,18	-4,41	10,56	0,088 \pm 3,19

Tabla IV.24.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo monocompartimental de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas tras la administración intramuscular de norfloxacin a ovejas (10 mg/kg).(Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

PARAMETROS CINETICOS (intramuscular)	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E	Media \pm E.S.M.
Tmax (min)	60,00	240,00	180,00	60,00	45,00	117,00 \pm 39,23
Cmax (μ g/ml)	2,16	2,70	4,29	3,91	3,41	3,29 \pm 0,39
k (10^{-3})(1/min)	1,10	0,90	1,00	0,90	0,80	0,94 \pm 0,05
T $_{1/2}$ (min)	648,88	745,70	721,14	811,43	821,23	749,68 \pm 31,56
AUCt (μ g*min/ml)	1867,52	2646,30	4173,77	3776,47	2186,50	2930,11 \pm 448,64
AUCi (μ g*min/ml)	2354,32	2843,74	4465,08	4303,26	2482,70	3289,82 \pm 454,64
MRTt (min)	485,10	781,28	771,12	845,28	831,96	742,95 \pm 66,01
MRTi (min)	876,10	1052,73	976,58	1237,67	1217,65	1072,15 \pm 69,47

Tabla IV.25.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo no compartimental de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas tras la administración intramuscular de norfloxacin a ovejas (10 mg/kg).(Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

OVEJAS	AUCt (intravenosa)	AUCt (intramuscular)	F (%)
A	3635,30	1867,52	51,37
B	12706,31	2646,30	20,82
C	10747,81	4173,77	38,83
D	12661,81	3776,47	29,82
E	12653,50	2186,50	17,27
Media \pm E.S.M.:			31,62 \pm 6,19

Tabla IV.26.- Biodisponibilidades obtenidas tras la administración intramuscular a ovejas.
(Valores individuales; Medias \pm E.S.M.).

IV.4.1.- CONCENTRACIONES RUMINALES DE NORFLOXACINA TRAS LA ADMINISTRACION INTRAMUSCULAR A OVEJAS

Los valores de las concentraciones ruminales de norfloxacin a tras la administraci3n intramuscular, se presentan en la Tabla IV.27, y en la Figura IV.9 la representaci3n de los niveles simult3neos de norfloxacin a en el plasma y en el contenido ruminal en las ovejas estudiadas.

La norfloxacin a fue detectable en el contenido ruminal de 4 de las 5 ovejas estudiadas, obteni3ndose las m3ximas concentraciones entre las 10 y las 24 h post-administraci3n con un rango entre 0,60-2,85 $\mu\text{g/ml}$, siendo detectable a las 48 h post-administraci3n en dos de los animales estudiados.

Los resultados obtenidos de concentraci3n ruminal frente al tiempo, fueron ajustados a un modelo no compartimental, present3ndose en la Tabla IV.28 los par3metros farmacocin3ticos obtenidos para cada animal.

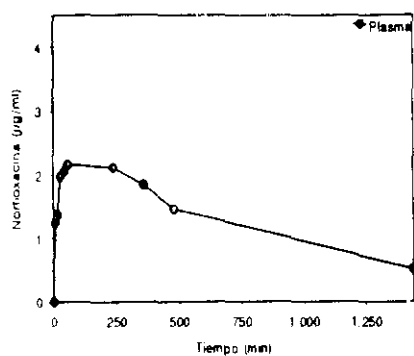
Tras la administraci3n intramuscular, la relaci3n de concentraciones de norfloxacin a entre el l3quido ruminal y el plasma calculada experimentalmente, toma valores de 0,39, mientras que el valor te3rico esperable es de 0,07 (Tabla IV.21).

Tiempo (min)	Concentración Ruminal ($\mu\text{g/ml}$)				
	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E
15	----	----	----	----	----
30	----	----	----	----	----
60	----	0,41	----	----	----
120	----	0,41	0,11	----	----
180	----	----	0,11	----	----
240	----	0,38	0,11	----	----
360	----	0,57	0,34	----	----
480	----	0,41	0,87	----	0,60
600	----	0,34	1,25	----	1,82
720	----	0,26	0,26	0,19	----
1440	----	0,60	----	2,85	----
1920	----	----	----	0,19	----
2880	----	0,11	0,64	----	----

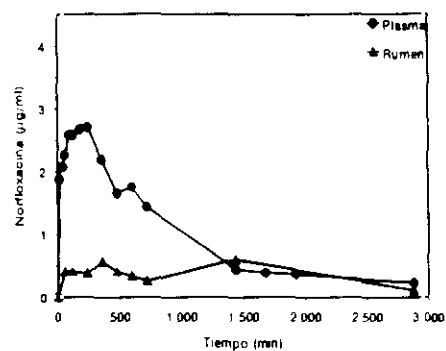
Tabla IV.27.- Concentraciones ruminales de norfloxacin ($\mu\text{g/ml}$) obtenidas a diferentes tiempos tras la administración oral a ovejas (10 mg/kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

PARAMETROS CINETICOS (intramuscular-c. ruminal)	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E	Media \pm E.S.M
Tmax (min)	1440,00	600,00	1440,00	600,00	1020,00 \pm 242,48
Cmax (μ g/ml)	0,60	1,25	2,85	1,82	1,63 \pm 0,48
AUCt (μ g*min/ml)	1101,90	1309,20	1892,40	289,20	1148,17 \pm 331,63
MRTt (min)	1206,47	1805,39	1399,52	525,31	1234,17 \pm 267,22

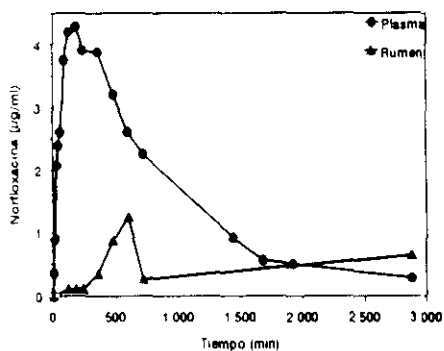
Tabla IV.28.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo no compartimental de la evolución en el tiempo de las concentraciones ruminales tras la administración intramuscular de norfloxacin a ovejas (10 mg/kg).(Valores individuales; media \pm E.S:M.; n=5).



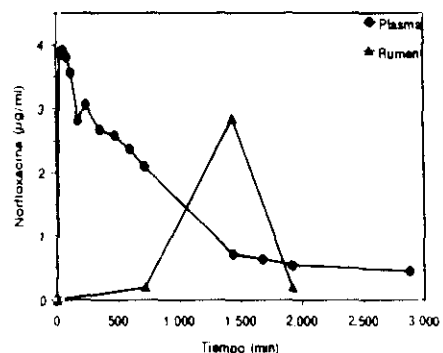
OVEJA A



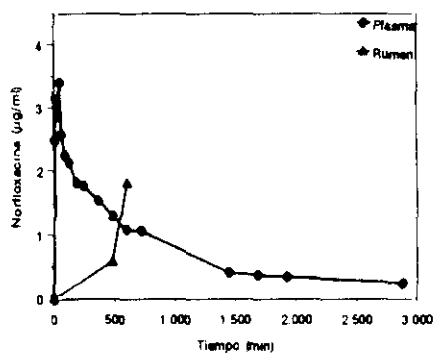
OVEJA B



OVEJA C



OVEJA D



OVEJA E

Figura IV.9.- Representación gráfica de la evolución en el tiempo de las concentraciones simultáneas de norfloxacin en plasma y en contenido ruminal de las ovejas estudiadas (n=5) tras la administración intramuscular (10 mg/kg).

IV.5.- ADMINISTRACION ORAL EN OVEJAS

Los valores de concentración plasmática de la norfloxacin a tras su administraci3n oral, se presentan en la Tabla IV.29 y la representaci3n gr3fica de las mismas se muestra en las Figuras IV.10. y IV.12.

Tras la administraci3n oral, la norfloxacin a es detectable en el plasma de todas las ovejas estudiadas a los 20 min post-administraci3n en un rango entre 0,37-1,27 $\mu\text{g/ml}$.

El valor de las concentraciones plasm3ticas es bastante homog3neo en el tiempo, sin embargo, se observa en todos los animales al estudiar la evoluci3n de las mismas, que durante la 1 h post-administraci3n, se obtienen niveles plasm3ticos m3ximos que posteriormente descienden hasta las 4 h donde, en tres de los cinco animales estudiados, aparece de nuevo un significativo incremento de las concentraciones plasm3ticas que posteriormente disminuyen hasta que entre las 10 y las 24 h post-administraci3n se encuentran los m3ximos niveles plasm3ticos en cuatro de los cinco animales estudiados. Estos hechos, son muy evidentes al observar la evoluci3n de las concentraciones plasm3ticas medias de las cinco ovejas en el tiempo.

Por otra parte, en todos los animales estudiados, se encontraron niveles plasm3ticos de norfloxacin a a las 48 h post-administraci3n en un rango de 0,48-1,04 $\mu\text{g/ml}$.

Los resultados no fueron susceptibles de ser ajustados a un modelo compartimental, por lo que se opt3 por un an3lisis no compartimental de los mismos, present3ndose en la Tabla IV.30 los par3metros farmacocin3ticos obtenidos.

La biodisponibilidad de la norfloxacin administrada por vía oral en ovejas obtenida fue de $4,04 \pm 1,14 \%$ (Tabla IV.31).

Tiempo (min)	Concentración Plasmática ($\mu\text{g/ml}$)					Media \pm E.S.M.
	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E	
20	1,27	0,73	0,60	0,50	0,37	0,69 \pm 0,15
40	1,15	0,76	0,76	1,27	0,63	0,91 \pm 0,12
60	0,60	1,11	0,50	1,33	0,58	0,82 \pm 0,17
120	0,32	0,83	0,57	0,94	0,64	0,66 \pm 0,11
180	0,50	0,70	0,41	0,47	0,41	0,50 \pm 0,05
240	0,63	0,99	0,44	2,23	0,40	0,94 \pm 0,34
300	0,47	0,79	0,44	0,45	0,49	0,53 \pm 0,07
360	0,54	0,54	0,54	0,53	0,74	0,58 \pm 0,04
420	0,38	0,44	0,57	0,68	0,72	0,56 \pm 0,06
480	0,54	0,59	0,67	0,64	0,68	0,62 \pm 0,03
600	2,26	0,60	0,67	1,22	0,98	1,15 \pm 0,30
720	0,44	0,20	0,76	1,25	1,08	0,75 \pm 0,19
1440	0,41	0,63	0,99	0,76	0,68	0,69 \pm 0,09
1740	----	0,60	0,89	0,67	0,64	0,70 \pm 0,06
2040	----	0,57	0,73	0,78	0,75	0,71 \pm 0,04
2880	0,92	0,48	0,83	1,04	0,67	0,79 \pm 0,10

Tabla IV.29.- Concentraciones plasmáticas de norfloxacin ($\mu\text{g/ml}$) obtenidas a diferentes tiempos tras la administración oral a ovejas (60 mg/kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

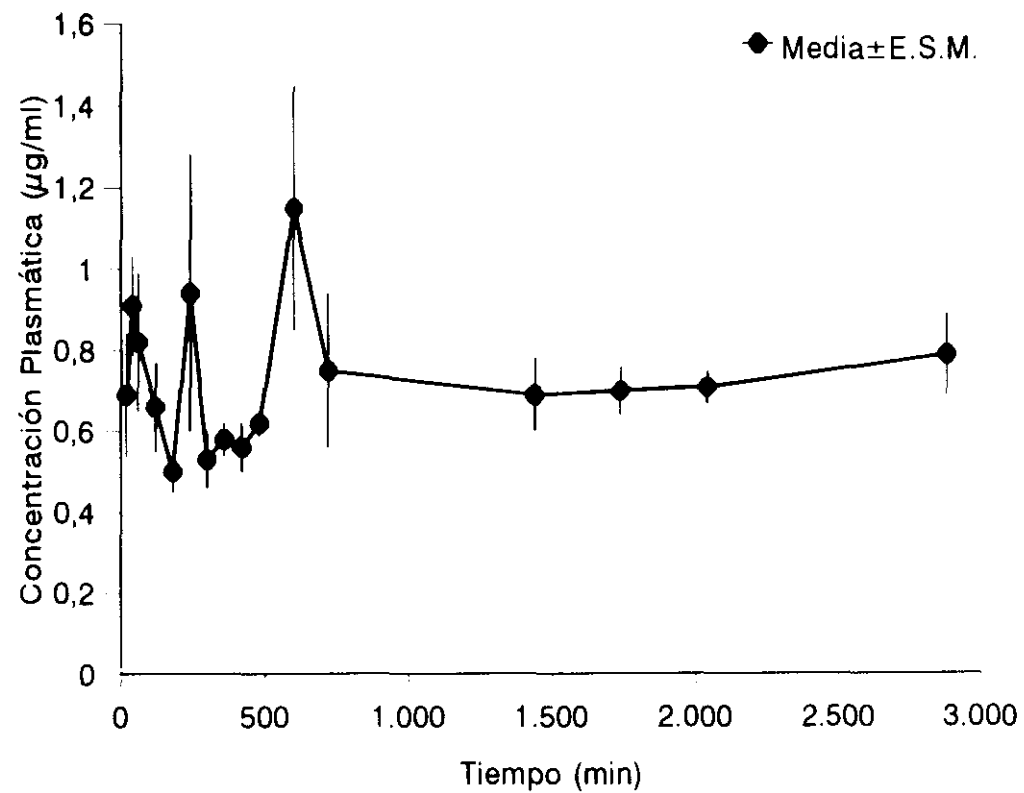


Figura IV.10.- Representación gráfica de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas medias de norfloxacin tras la administración oral a ovejas (60 mg/kg). (Media \pm E.S.M.; $n=5$).

PARAMETROS CINETICOS (oral)	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E	Media \pm E.S.M.
Tmax (min)	600,00	60,00	1440,00	240,00	720,00	612,00 \pm 238,79
Cmax ($\mu\text{g/ml}$)	2,26	1,11	0,99	2,23	1,08	1,53 \pm 0,29
AUCt ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	1852,60	1568,50	2221,90	2605,60	2127,30	2075,18 \pm 174,90
MRTt (min)	1572,81	1413,31	1531,27	140136	1411,33	1466,01 \pm 35,78

Tabla IV.30.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo no compartimental de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas tras la administración oral de norfloxacin a ovejas (60 mg/kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

OVEJAS	AUCt (intravenosa)	AUCt (oral)	F (%)
A	3635,30	1852,60	8,49
B	12706,31	1568,50	2,05
C	10747,81	2221,90	3,44
D	12661,81	2605,60	3,42
E	12653,50	2127,33	2,80
Media \pm E.S.M.:			4,04 \pm 1,14

Tabla IV.31.- Biodisponibilidades obtenidas tras la administración oral a ovejas.
(Valores individuales; Medias \pm E.S.M.).

IV.5.1.- CONCENTRACIONES RUMINALES DE NORFLOXACINA TRAS LA ADMINISTRACION ORAL EN OVEJAS

La resultados de evolución en el tiempo de las concentraciones ruminales de norfloxacin a tras su administración oral se presentan en la Tabla IV.32 y en la Figura IV.11, se muestra la representación grafica de las concentraciones simultáneas de norfloxacin a en el plasma y en el contenido ruminal en las ovejas estudiadas.

La norfloxacin a era detectable en todas las ovejas entre los 20 min y las 48 h post-administración, momento en el que las concentraciones ruminales se situaban en un rango entre 21,97- 240,26 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Obteniéndose las máximas concentraciones ruminales entre los 60-180 min post-administración con valores entre 388,51-746,76 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras el ajuste no compartimental de las concentraciones ruminales para cada oveja, se presentan en la Tabla IV.33.

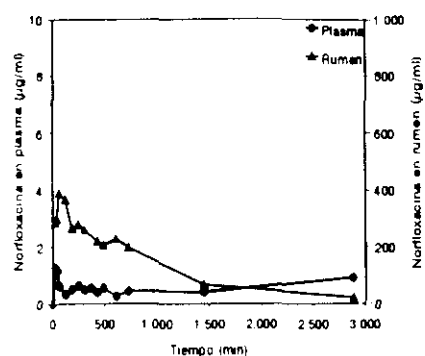
La relación de concentraciones entre el contenido ruminal y el plasma obtenida experimentalmente es de 402,28, mientras que el valor teórico esperable estaría en torno a 9,82 (Tabla IV.21).

Tiempo (min)	Concentración Ruminal ($\mu\text{g/ml}$)				
	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E
20	284,29	180,83	630,38	540,10	591,55
40	298,89	558,74	602,81	550,40	569,54
60	388,51	652,81	632,92	518,13	578,47
120	367,30	573,43	625,38	420,15	598,09
180	266,88	600,72	746,76	383,91	552,30
240	280,15	587,33	593,11	437,98	458,82
300	261,40	569,46	478,55	404,29	508,97
360	-----	602,85	594,29	407,60	490,30
420	221,10	581,14	518,82	360,72	469,58
480	206,12	482,92	485,28	413,95	446,92
600	228,44	541,78	628,47	389,61	488,09
720	197,79	228,17	653,19	343,53	450,72
1440	67,60	225,85	394,35	243,68	382,12
1740	-----	287,03	321,59	222,73	314,56
2040	-----	179,96	343,95	210,60	304,56
2880	21,97	115,96	189,73	192,28	240,26

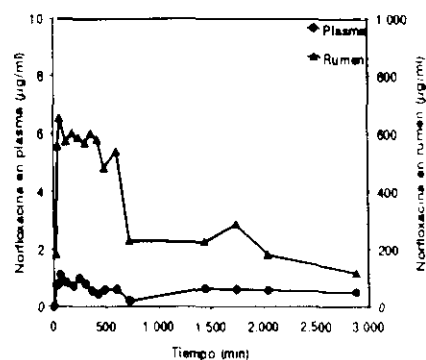
Tabla IV.32.- Concentraciones ruminales de norfloxacin ($\mu\text{g/ml}$) obtenidas a diferentes tiempos tras la administración oral a ovejas (60 mg/kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

PARAMETROS CINETICOS (oral - c. ruminal)	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E	Media \pm E.S.M
Tmax (min)	60.00	60.00	160.00	40.00	120.00	92.00 \pm 25.76
Cmax ($\mu\text{g/ml}$)	366.51	652.61	746.76	550.40	596.09	567.31 \pm 59.46
k (10^{-3}) (1/min)	1.00	0.60	0.40	0.30	0.30	0.52 \pm 0.13
T $_{1/2}$ (min)	700.61	1130.40	1939.15	2017.33	2449.60	1646.45 \pm 318.27
AUC $_t$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	343350.60	606660.30	1131542.00	607600.90	1062910.00	634616.60 \pm 140099.79
AUC $_i$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	365563.40	997790.20	1660963.00	1367212.00	1931993.00	1264704.45 \pm 273175.66
MRT $_t$ (min)	763.40	1055.00	1176.94	1192.49	1226.99	1063.96 \pm 65.16
MRT $_i$ (min)	953.45	1709.96	2609.19	3074.45	3507.74	2370.96 \pm 463.14

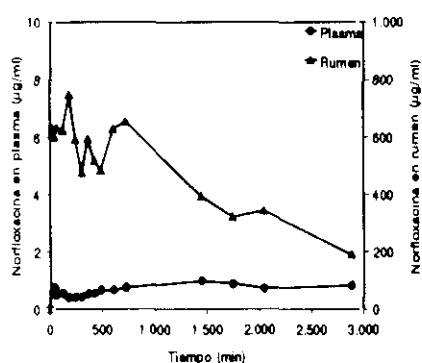
Tabla IV.33.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo no compartimental de la evolución en el tiempo de las concentraciones ruminales tras la administración oral de norfloxacin a ovejas (60 mg/kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).



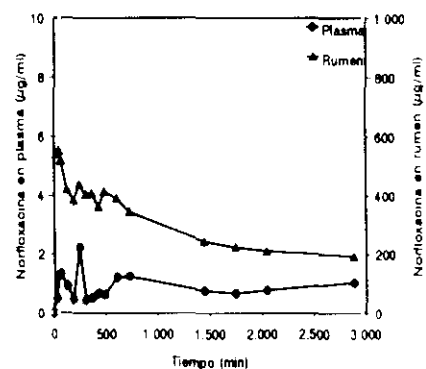
OVEJA A



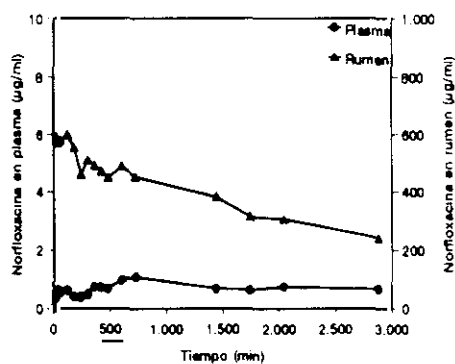
OVEJA B



OVEJA C



OVEJA D



OVEJA E

Figura IV.11.- Representación gráfica de la evolución en el tiempo de las concentraciones simultáneas de norfloxacin en plasma y en contenido ruminal de las ovejas estudiadas (n=5) tras la administración oral (60 mg/kg).

IV.6.- ADMINISTRACION INTRAVENOSA EN CORDEROS

Tras la administración intravenosa rápida de norfloxacin a cinco corderos se obtuvieron las concentraciones plasmáticas que se muestran en la Tabla IV.34, presentándose la representación gráfica de las mismas en las Figuras IV.13. y IV.15.

Las curvas obtenidas nos permiten observar un acusado descenso de las concentraciones plasmáticas durante los primeros minutos post-administración, indicando una primera fase de distribución rápida, así, las concentraciones plasmáticas medias pasan de $10,13 \pm 2,33 \mu\text{g/ml}$ a los 5 min post-administración a $5,19 \pm 1,19 \mu\text{g/ml}$ a los 30 min, encontrándose en todos los animales estudiados niveles plasmáticos a las 25 horas post-administración en un rango de $0,59 \pm 0,26 \mu\text{g/ml}$.

El estudio farmacocinético de los resultados permitía, para todos los corderos estudiados, un ajuste a un modelo bicompartimental abierto y a un modelo tricompartmental con eliminación de primer orden desde el compartimento central, si bien, a la vista de los resultados obtenidos de r y AIC para cada individuo y modelo utilizado que se presentan en la Tabla IV.35, seleccionamos el modelo tricompartmental como aquel que mejor representa el comportamiento cinético de la norfloxacin administrada por vía intravenosa a corderos.

En las tablas IV.36 y IV.37 se presentan respectivamente los valores de los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras el ajuste tricompartmental y bicompartmental de la evolución de las concentraciones plasmáticas en el tiempo. No habiendo diferencias estadísticamente significativas al comparar los valores medios de los parámetros farmacocinéticos obtenidos a partir de las concentraciones individuales con los obtenidos con las medias de las concentraciones plasmáticas de los 5 corderos (Tabla IV.38).

Al igual que las ovejas, algunos corderos presentaron tras la administración intravenosa cierto grado de apatía y somnolencia que se prolongaba aproximadamente hasta los 30 min post-administración y que no se presentaba tras la administración oral de la norfloxacin.

Tiempo (min)	Concentración Plasmática (µg/ml)					Media ± E. S. M.
	Cordero 1	Cordero 2	Cordero 3	Cordero 4	Cordero 5	
2	9,81	22,27	12,13	10,92	14,71	13,97 ± 2,23
5	5,63	18,36	7,96	6,65	12,07	10,13 ± 2,33
10	4,36	13,87	5,09	4,62	9,58	7,50 ± 1,85
15	3,88	10,95	4,46	3,88	8,79	6,39 ± 1,46
22	3,63	9,31	4,01	3,66	7,90	5,70 ± 1,21
30	2,71	8,35	3,37	3,72	7,80	5,19 ± 1,19
45	2,55	7,05	2,96	3,15	7,58	4,66 ± 1,09
60	2,45	6,57	2,67	2,74	7,36	4,36 ± 1,07
90	2,07	5,24	2,55	2,07	6,27	3,64 ± 0,88
120	1,46	4,84	1,78	2,00	5,64	3,14 ± 0,87
180	1,05	4,80	1,50	1,62	5,00	2,79 ± 0,86
240	1,02	3,36	1,43	1,24	4,68	2,35 ± 0,72
360	0,70	3,14	0,79	0,86	3,95	1,89 ± 0,69
480	0,48	2,64	0,57	0,64	3,34	1,53 ± 0,60
600	0,47	1,87	0,44	0,44	2,42	1,13 ± 0,42
1500	0,19	1,47	0,19	0,22	0,89	0,59 ± 0,26
1740	----	1,05	----	----	----	----
2040	----	1,08	----	----	----	----
2880	----	0,35	----	----	----	----

Tabla IV.34.- Concentraciones plasmáticas de norfloxacin (µg/ml) obtenidas a diferentes tiempos tras la administración intravenosa a corderos (10 mg/kg). (Valores individuales; media ± E.S.M.; n=5).

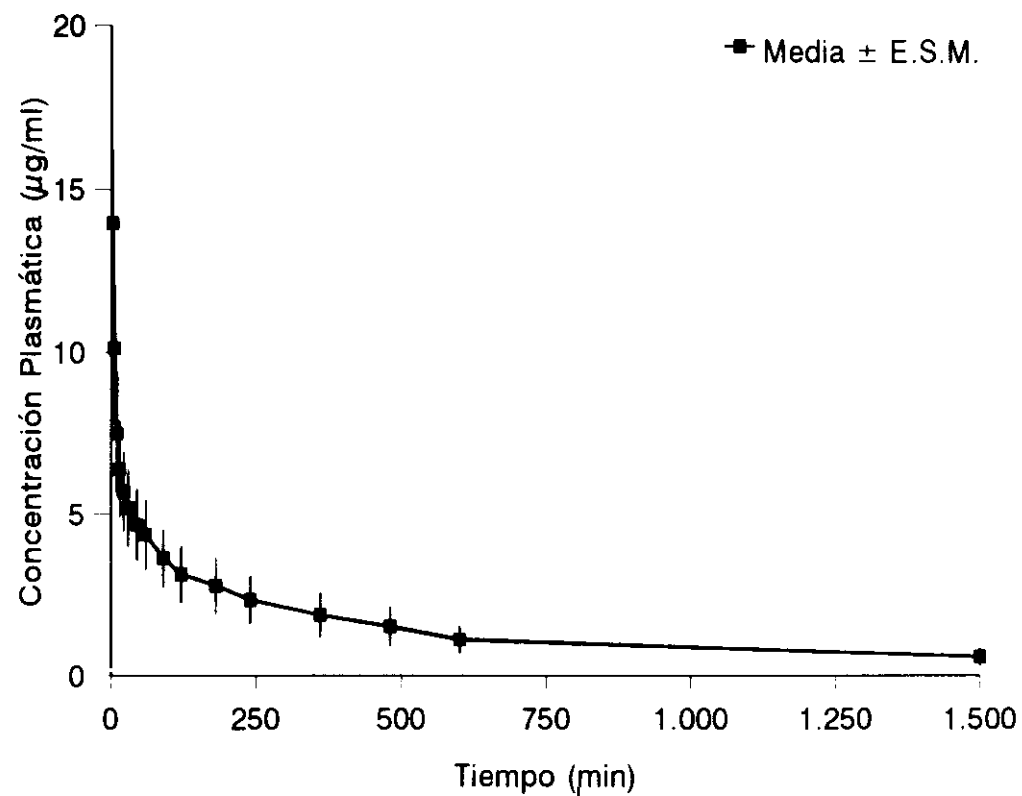


Figura IV.13.- Representación gráfica de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas medias de norfloxacin tras la administración intravenosa a corderos (10 mg/kg). (Media \pm E.S.M.; n=5).

CORDERO	BICOMPARTIMENTAL		TRICOMPARTIMENTAL	
	r	AIC	r	AIC
1	0,879	-19.56	0,997	-40.11
2	0,980	4.82	0,999	-4.07
3	0,955	-8.09	0,998	-43.34
4	0,838	-12.09	0,998	-42.35
5	0,989	7.32	0,999	-11.18

Tabla IV.35.- Valores individuales de AIC y r obtenidos para el ajuste bicompartimental y tricompartmental de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas de norfloxacin tras su administración intravenosa a corderos.

PARAMETROS CINETICOS (intravenosa)	Cordero 1	Cordero 2	Cordero 3	Cordero 4	Cordero 5	Media \pm E S M
A ($\mu\text{g/ml}$)	11.43	16.94	11.56	11.92	9.08	12.18 \pm 1.29
B ($\mu\text{g/ml}$)	3.15	5.32	3.24	3.28	3.15	3.62 \pm 0.42
C ($\mu\text{g/ml}$)	0.84	3.62	0.60	0.63	5.42	2.22 \pm 0.98
α (10^{-3})(1/min)	336.93	114.44	189.59	270.64	187.94	219.91 \pm 38.29
β (10^{-3})(1/min)	11.18	9.54	6.33	6.52	7.70	8.25 \pm 0.92
γ (10^{-3})(1/min)	0.99	0.75	0.77	0.71	1.21	0.89 \pm 0.09
C ($\mu\text{g/ml}$)	15.42	25.89	15.40	15.83	17.65	18.04 \pm 2.01
K21 (10^{-3})(1/min)	93.94	43.77	51.99	71.19	93.17	70.67 \pm 10.35
K31 (10^{-3})(1/min)	2.99	4.00	1.58	1.59	5.26	3.08 \pm 0.71
K10 (10^{-3})(1/min)	13.34	4.70	11.40	11.00	3.58	8.80 \pm 1.95
K12 (10^{-3})(1/min)	218.79	59.79	123.12	183.50	90.94	135.22 \pm 29.25
K13 (10^{-3})(1/min)	20.05	12.48	9.20	10.58	3.90	11.24 \pm 2.62
T $_{1/2}$ K10 (min)	51.95	147.61	60.82	62.99	193.59	103.39 \pm 28.44
T $_{1/2}\alpha$ (min)	2.06	6.06	3.66	2.56	3.69	3.60 \pm 0.69
T $_{1/2}\beta$ (min)	62.01	72.66	109.37	106.35	90.03	88.08 \pm 9.24
T $_{1/2}\gamma$ (min)	695.10	920.06	900.50	978.72	571.67	813.20 \pm 77.05
V _{dc} (l/kg)	0.65	0.39	0.65	0.63	0.57	573.36 \pm 49.89
V _{ss} (l/kg)	6.50	2.12	5.99	6.45	1.54	4.52 \pm 1.10
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	1155.89	5513.43	1351.46	1438.90	4931.60	2878.26 \pm 962.54
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	993.29	5180.29	1136.08	1143.71	2797.04	2250.08 \pm 804.04
Cl (10^{-3})(l/kg/min)	8.65	1.81	7.40	6.95	2.02	5.37 \pm 1.43
MRT (min)	750.89	1168.20	809.41	927.96	759.08	883.10 \pm 77.97

Tabla IV.36.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo tricompartmental de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas tras la administración intravenosa de norfloxacin a corderos (10 mg/kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

PARAMETROS CINETICOS (intravenosa)	Cordero 1	Cordero 2	Cordero 3	Cordero 4	Cordero 5	Media \pm E.S.M.
A ($\mu\text{g/ml}$)	4,03	14,71	7,19	3,98	8,07	7,59 \pm 1,95
B ($\mu\text{g/ml}$)	0,95	4,27	2,09	0,93	6,81	3,01 \pm 1,12
α (10^{-3})(1/min)	15,90	37,65	55,25	10,25	79,97	39,80 \pm 12,84
β (10^{-3})(1/min)	1,10	0,83	2,21	0,98	1,44	1,31 \pm 0,24
C ($\mu\text{g/ml}$)	4,98	18,98	9,28	4,90	14,89	10,60 \pm 2,77
K ₂₁ (10^{-3})(1/min)	3,93	9,11	14,16	2,73	37,37	13,46 \pm 6,31
K ₁₀ (10^{-3})(1/min)	4,46	3,43	8,64	3,69	3,08	4,66 \pm 1,02
K ₁₂ (10^{-3})(1/min)	8,62	25,93	34,66	4,81	40,95	22,99 \pm 7,08
T _{1/2} K ₁₀ (min)	155,36	201,85	80,20	187,87	224,78	170,01 \pm 25,11
T _{1/2} α (min)	43,58	18,41	12,54	67,60	8,67	30,16 \pm 11,16
T _{1/2} β (min)	629,29	833,98	312,90	704,33	480,96	592,29 \pm 90,21
V _{dc} (l/kg)	2,00	0,53	1,08	2,04	0,67	1,26 \pm 0,32
V _{dee} (l/kg)	6,41	2,02	3,71	5,62	1,41	3,83 \pm 0,97
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	1115,61	5528,47	1074,17	1330,60	4829,04	2775,57 \pm 988,26
Cl (10^{-3})(l/kg/min)	8,96	1,80	9,31	7,51	2,07	5,93 \pm 1,65
MRT (min)	716,09	1120,00	398,92	748,02	679,63	732,53 \pm 115,05

Tabla IV.37.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo bicompartimental de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas tras la administración intravenosa de norfloxacin a corderos (10 mg/kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

PARAMETROS CINETICOS (intravenosa)	
A ($\mu\text{g/ml}$)	11,36
B ($\mu\text{g/ml}$)	3,82
C ($\mu\text{g/ml}$)	2,32
α (10^3)(1/min)	189,94
β (10^3)(1/min)	9,38
γ (10^3)(1/min)	0,96
Cmax ($\mu\text{g/ml}$)	17,50
K21 (10^3)(1/min)	70,85
K31 (10^3)(1/min)	3,98
K10 (10^3)(1/min)	6,09
K12 (10^3)(1/min)	107,98
K13 (10^3)(1/min)	11,39
T1/2K10 (min)	113,84
T1/2 α (min)	3,65
T1/2 β (min)	73,88
T1/2 γ (min)	719,72
Vdc (l/kg)	571,30
Vss (l/kg)	3,08
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	2874,82
Cl (10^3)(l/kg/min)	3,48
MRT (min)	884,70
r	0,999
AIC	-13,86

Tabla IV.38.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo tricompartmental de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas medias (n=5) tras la administración intravenosa de norfloxacin a corderos (10 mg/kg).

IV.7.- ADMINISTRACION ORAL EN CORDEROS

Los valores de concentración plasmática de norfloxacin a tras su administraci3n oral a corderos se presentan en la Tabla IV.39, observandose en las Figuras IV.14 y IV.15, la representaci3n gr3fica de las mismas.

La norfloxacin es detectable a los 10 min post-administraci3n en 4 de los 5 corderos estudiados y a los 20 min en todos los corderos con una concentraci3n media de $2,01 \pm 0,43 \mu\text{g/ml}$, lo que indica su r3pida absorci3n.

La evoluci3n de las concentraciones plasm3ticas en el tiempo permite observar que los m3ximos niveles plasm3ticos se obtienen en todos los corderos entre las 3-6 horas post-administraci3n, si bien, en 4 de los 5 corderos estudiados, se observan picos de concentraci3n plasm3tica entre los 20 y los 40 min post-administraci3n y en todos los corderos se encontraron niveles plasm3ticos a las 48 horas post-administraci3n en una media de $0,71 \pm 0,35 \mu\text{g/ml}$.

Los valores de concentraci3n plasm3tica frente al tiempo obtenidos para cada cordero se ajustaron a un modelo monocompartimental con absorci3n y eliminaci3n de primer orden (Tabla IV.40), en el cual la falta de homogeneidad en el comportamiento farmacocin3tico de los distintos corderos, contribuía a las variaciones observadas en los par3metros farmacocin3ticos compartimentales, por lo que se procedió al an3lisis no compartimental de los resultados, present3ndose en la Tabla III.41 los par3metros farmacocin3ticos obtenidos.

La biodisponibilidad media de la norfloxacin administrada por vía oral a los corderos obtenida fue de $73,51 \pm 14,55 \%$ (Tabla IV.42).

Tiempo (min)	Concentración Plasmática (µg/ml)					Media ± E.S.M
	Cordero 1	Cordero 2	Cordero 3	Cordero 4	Cordero 5	
10	0.54	3.57	1.94	0.80	----	1.71 ± 0.69
20	0.83	3.23	2.29	1.27	2.42	2.01 ± 0.43
40	0.92	4.23	1.75	1.27	2.13	2.06 ± 0.58
50	1.64	3.01	----	----	----	2.32 ± 0.68
60	1.66	2.87	1.87	0.99	2.23	1.92 ± 0.31
90	1.75	2.28	2.48	1.66	2.39	2.11 ± 0.17
120	2.14	2.48	2.26	2.51	2.26	2.33 ± 0.07
180	2.11	3.13	2.89	3.66	3.53	3.06 ± 0.27
240	1.75	3.54	3.05	3.37	2.96	2.93 ± 0.31
300	2.76	4.14	3.09	3.15	3.06	3.24 ± 0.23
360	1.57	2.90	3.21	3.57	3.31	2.91 ± 0.35
420	1.82	3.96	----	----	----	2.89 ± 1.07
480	1.29	3.99	2.42	3.28	2.26	2.65 ± 0.46
600	1.11	3.19	1.71	2.96	1.78	2.15 ± 0.40
720	0.98	3.38	----	----	----	2.18 ± 1.20
1440	0.64	1.78	0.47	0.60	0.73	0.64 ± 0.24
1740	0.66	1.14	----	----	----	0.90 ± 0.24
2040	0.54	0.77	----	----	----	0.65 ± 0.11
2880	0.51	2.11	0.30	0.34	0.31	0.71 ± 0.35

Tabla IV.39.- Concentraciones plasmáticas de norfloxacin (µg/ml) obtenidas a diferentes tiempos tras la administración oral a corderos (30 mg/kg). (Valores individuales; media ± E.S.M.; n=5).

PARAMETROS CINETICOS (oral)	Cordero 1	Cordero 2	Cordero 3	Cordero 4	Cordero 5	Media \pm E.S.M.
Vol/t (ml/kg)	10,83	8,41	10,75	5,21	2,77	7,59 \pm 1,58
K01 (10^{-3})(1/min)	15,21	522,60	87,55	5,70	21,66	130,54 \pm 99,07
K10 (10^{-3})(1/min)	1,28	0,24	0,32	1,55	0,88	0,85 \pm 0,25
AUCt ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$)	2537,95	6211,70	3005,30	3915,25	3372,05	3808,45 \pm 641,74
AUCi ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$)	2170,13	14857,12	8663,43	3725,18	4093,63	6701,89 \pm 2308,20
T _{1/2} K01 (10^{-3})(1/min)	45,56	1,32	7,92	121,51	31,99	41,66 \pm 21,50
T _{1/2} K10 (10^{-3})(1/min)	543,16	2887,43	2152,19	448,22	786,98	1363,59 \pm 489,25
Tmax (min)	177,83	14,71	64,26	313,93	154,09	144,96 \pm 51,57
Cmax ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	2,20	3,55	2,73	3,54	3,15	3,03 \pm 0,25
r	0,905	0,684	0,730	0,956	0,833	0,820 \pm 0,05
AIC	19,72	45,45	25,65	11,27	22,60	24,93 \pm 5,66

Tabla IV.40.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo monocompartimental de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas tras la administración oral de norfloxacin a corderos (30 mg/kg).(Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

PARAMETROS CINETICOS (oral)	Cordero 1	Cordero 2	Cordero 3	Cordero 4	Cordero 5	Media \pm E.S.M.
Tmax (min)	300,00	40,00	360,00	180,00	180,00	212,00 \pm 55,35
Cmax ($\mu\text{g/ml}$)	2,76	4,23	3,21	3,66	3,53	3,47 \pm 0,24
β (10^{-3})(1/min)	0,30	----	0,30	1,00	0,60	0,55 \pm 0,16
$T_{1/2\beta}$ (min)	1992,60	----	2223,26	698,80	1165,40	1520,01 \pm 355,67
AUCt ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	2537,95	6211,70	3005,30	3915,25	3393,95	3812,83 \pm 641,01
AUCi ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	4004,06	----	3967,54	4258,02	3915,16	4036,19 \pm 76,15
MRTt (min)	1059,41	1146,90	760,07	769,51	810,81	909,34 \pm 80,77
MRTi (min)	2778,63	----	2052,12	1020,56	1310,10	1790,35 \pm 394,59

Tabla IV.41.- Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el ajuste a un modelo no compartimental de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas tras la administración oral de norfloxacin a corderos (30 mg/kg).(Valores individuales; media \pm E.S.M.; n=5).

CORDEROS	AUCt (intravenosa)	AUCt (oral)	F (%)
1	993,29	2537,95	85,16
2	5180,29	6211,70	39,96
3	1136,08	3005,30	88,16
4	1143,71	3915,25	114,09
5	2794,04	3372,05	40,18
Media \pm E.S.M.:			73,51 \pm 14,55

Tabla IV.42.- Biodisponibilidades obtenidas tras la administración oral a corderos.
(Valores individuales; Medias \pm E.S.M.).

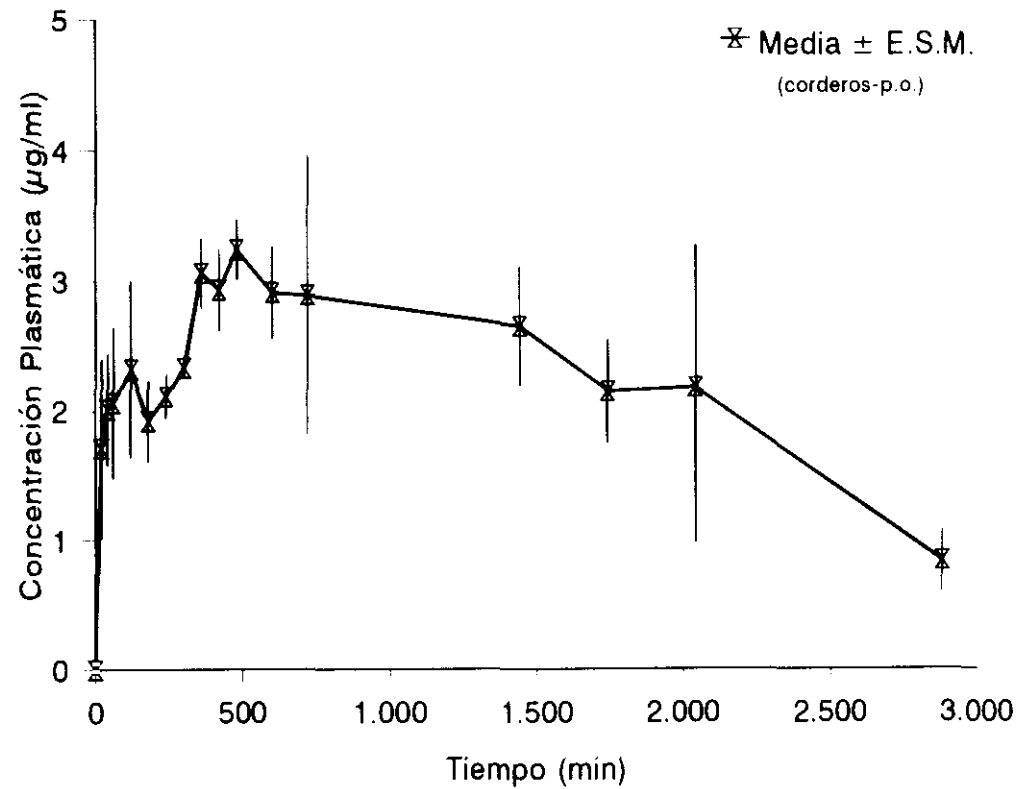


Figura IV.14.- Representación gráfica de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas medias de norfloxacin tras la administración oral a corderos (30 mg/kg). (Media \pm E.S.M.; n=5).

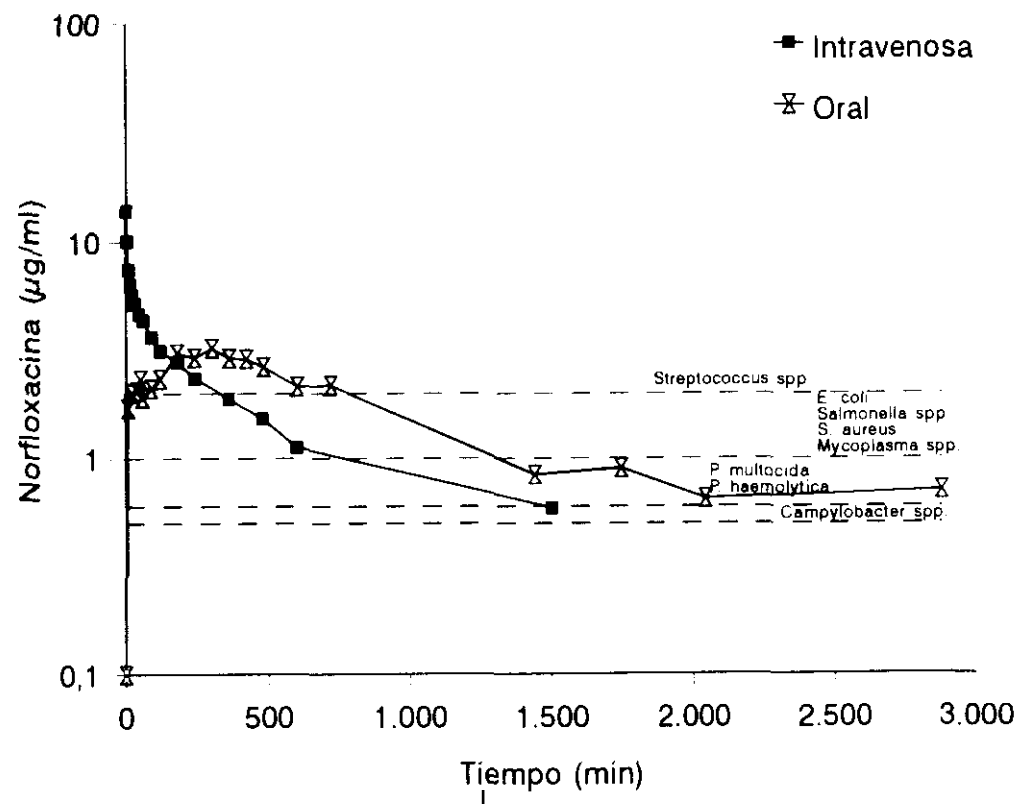


Figura IV.15.- Representación semilogarítmica de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas medias de norfloxacin tras la administración intravenosa y oral a corderos. (Medias \pm E.S.M.; $n=5$).

V.- DISCUSSION

V.- DISCUSION

V.1.-DISCUSION DEL METODO

V.1.1.- METODOLOGIA ANALITICA

El método de cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE) desarrollado, permite obtener una adecuada resolución de cada quinolona frente a los picos cromatográficos debidos a los componentes plasmáticos y ruminales.

Puesto que la norfloxacin y la enrofloxacin poseen una alta polaridad debida a la presencia en sus moléculas de dos grupos ionizables, la mayoría de los autores emplean la cromatografía de fase reversa utilizando un par iónico para conseguir una mejor separación, bien la trietilamina (TYCZKOMSKA y col., 1989) o el tetrabutilamonio (MONTAY y col., 1983). Hemos utilizado el ácido heptansulfónico como par iónico con el que, en las condiciones descritas, conseguíamos una buena separación.

Las pruebas de validez del método realizadas en ambos líquidos biológicos, linealidad, reproducibilidad y límite de detección, fueron apropiadas teniendo en cuenta los niveles plasmáticos y ruminales esperables del fármaco. Del mismo modo, los diferentes ensayos realizados con el patrón interno (tiempo de retención, resolución, reproducibilidad, linealidad y recuperabilidad), hacen que la enrofloxacin con este método cumpla con el fin asignado (HAELFELFINGER, 1981).

La fase móvil utilizada fue análoga a la descrita por FORCHETTI (1984).

si bien, este autor utiliza las proporciones (20:80 v/v) acetonitrilo:tampón fosfato; en nuestras condiciones analíticas elegimos las proporciones 30:70 para las muestras de plasma que permitían unos tiempos de retención menores que al utilizar 20:80 y poseían una buena resolución.

En cambio para la detección del fármaco en las muestras de contenido ruminal la fase móvil fue ajustada a 26:74, puesto que a las proporciones empleadas para las muestras plasmáticas el frente de los componentes ruminales se solapaba con los picos debidos a las quinolonas.

La extracción de las quinolonas a partir de las muestras biológicas presenta el inconveniente de que al poseer estas moléculas propiedades anfóteras su capacidad de unión a los componentes plasmáticos y ruminales es alta. Entre los métodos descritos se ha empleado NaOH 0,1 M combinado con acetonitrilo 1:1 como un buen método de precipitación-extracción que posibilita unos buenos rendimientos extractivos (TYCZKOMSKA y col., 1989), sin embargo, con esta técnica las recuperaciones obtenidas fueron más bajas.

El método extractivo utilizado se basa en el descrito por MONTAY y col. (1983) mediante la neutralización de la muestra con buffer fosfato pH 7,4 y posterior extracción con diclorometano, al igual que describen otros autores (DECOLIN y NICOLAS, 1987; FORCHETTI, 1984). La recuperación plasmática obtenida para la norfloxacin (67,54 \pm 1,14 %) es análoga a la descrita por FORCHETTI (1984) y MONTAY y col. (1983), con un 60% y un 65 % respectivamente. El rendimiento extractivo para la enrofloxacin a partir de las muestras plasmáticas fue de 103,29 \pm 1,51 %.

En las muestras de contenido ruminal nos encontramos con el problema de la posibilidad de degradación del fármaco por la microbiota que podría metabolizar-

inactivar éste al igual que se ha descrito para otros quimioterápicos (NIELSEN y col., 1978; SCHMIDT y LOSERTH, 1989; FRIIS, 1991). Por tanto, había que considerar un doble inconveniente, poner a punto el método extractivo y evitar la metabolización de la quinolona por los microorganismos ruminales para que las concentraciones obtenidas fueran lo más ajustadas posible al momento de la toma de la muestra.

Se ensayaron dos métodos diferentes para la inactivación de los microorganismos ruminales: la técnica de choque térmico descrita por SCHMIDT y LOSERTH, (1989) y la técnica de "extracción directa" a partir de la muestra en el mismo momento de su recogida. El método extractivo utilizado en ambos casos fue igual que para las muestras plasmáticas. La recuperación obtenida para la norfloxacin fue de 52,18 %, por el método directo y del 52,90 % por el choque térmico. La enrofloxacin se recupero en un 97,61 % por el método directo.

Los valores medios de recuperación obtenidos para ambos métodos, no presentaban diferencias significativas, por lo que para la cuantificación de la norfloxacin se utilizó el método de extracción directa debido a su mayor simplicidad. Este proceso requería que en un tiempo no superior a un minuto, el filtrado del contenido ruminal se pusiera en contacto con acetonitrilo, deteniéndose en ese instante cualquier proceso metabólico por parte de la microbiota.

Aunque el porcentaje de recuperación obtenido era menor que en plasma, tanto para la norfloxacin como para la enrofloxacin, éste se mantenía dentro de unos límites aceptables que permitían evaluar los niveles de estos compuestos en dicho fluido, teniendo en cuenta los límites de detección descritos para nuestro método. Este método de purificación de muestras nos permitió la obtención de unos cromatogramas con pocos picos de interferencia a pesar de partir de unas muestras tan complejas como las del contenido ruminal, pudiendo realizar una gran

concentración de las mismas y detectar concentraciones bajas de nuestro compuesto (0,1 $\mu\text{g/ml}$).

V.1.2.- CANULACION RUMINAL

De los diferentes sistemas que se podían utilizar para la obtención de líquido ruminal (sonda nasogástrica, punción, fistulas,...) elegimos el de la fistula ruminal por considerar que es él que menos problemas presentaba para la toma de muestras, permitiéndonos acceder a distintas zonas de extracción y asegurar la recogida en todos los casos, aunque al principio requiriera intervención quirúrgica. Esta fistula podría modificar el funcionamiento del sistema rumen-retículo (motilidad y bioquímica ruminal), pero después de una observación continuada de los animales, no se apreciaron alteraciones dignas de mención.

Son numerosos los autores que han descrito la utilización de estas cánulas ruminales en los rumiantes, tanto en lo referente al método quirúrgico de colocación de las mismas, como a los resultados obtenidos con su uso (MOGHA y BHARGAVA, 1979). En general, todos ellos se basan en provocar una fistula ruminal en la que posteriormente se introduce la cánula (JARRET, 1948; MOGHA y BHARGAVA, 1979), si bien, en estos métodos se describe la colocación de las cánulas desde el exterior hacia el interior, presentando el problema del frecuente desplazamiento de las mismas.

El método empleado se basa en los descritos por KOMAREK (1981) y BONAFONTE y col. (1985), en los cuales se utiliza un solo tiempo quirúrgico para la colocación de las cánulas y por tanto no hay necesidad de esperar la formación de adherencias de la pared del rumen a las capas tisulares más superficiales. Este método incluye la realización de dos incisiones quirúrgicas, introduciendo la cánula en su lugar de asentamiento de dentro hacia fuera y así, la incisión por la que se introduce la cánula es lo suficientemente pequeña para evitar su desplazamiento, a lo que contribuye la arandela externa y la tuerca de presión.

Con respecto a los materiales utilizados para la confección de las cánulas, se buscaron materiales asequibles y de baja reactividad histológica, no presentándose en ninguno de los animales utilizados signos de formación de adherencias o de necrosis locales.

La toma de muestras del contenido ruminal se realizaba con facilidad a través de una sonda, lo que permitía su obtención homogénea.

V.1.3.- ADMINISTRACION DE LA NORFLOXACINA

Al no existir datos publicados sobre la farmacocinética de la norfloxacin en los rumiantes, las pautas de dosificación y administración fueron extrapoladas a partir de datos publicados para otras especies y de la prueba ciega previa que se realizó sobre dos animales no incluidos en el protocolo de trabajo.

Por vía endovenosa se han utilizado dosis de 8 mg/kg en pollos (ANADON y col., 1992) y 5 mg/kg en perros (BROWN y col., 1990). Por vía oral las dosis empleadas han sido 8 mg/kg en pollos (ANADON y col., 1992) y 5, 10, y 20 mg/kg (BROWN y col., 1990) y 11 y 22 mg/kg (WALKER y col., 1989) en perros.

En las pruebas previas que realizamos con la dosis de 10 mg/kg de norfloxacin obteníamos niveles terapéuticos plasmáticos y niveles detectables en contenido ruminal, tanto para la administración intravenosa en corderos y en ovejas, como para la intramuscular en ovejas.

Para la administración oral las dosis elegidas fueron más elevadas, ya que dada la pobre biodisponibilidad de la norfloxacin encontrada en otras especies (BROWN y col., 1990; ; ANADON y col., 1992; HOLMES y col., 1985) y de otras quinolonas en rumiantes adultos (VANCUTSEN y col., 1990; SUMANO, 1993)(menor del 10 %), nos hacía presuponer un comportamiento análogo y por tanto una escasa absorción. Usamos por tanto una dosis de 60 mg/kg para ovejas y de 30 mg/kg para corderos, puesto que estos al ser prerrumiantes podrían comportarse como "monogástricos" y poseer una mejor biodisponibilidad.

V.1.4.- TRATAMIENTO FARMACOCINETICO Y ESTADISTICO

El tratamiento farmacocinético de las curvas de nivel plasmático en los rumiantes puede ser abordado desde varios puntos de vista.

El ajuste de los datos plasmáticos a modelos clásicos compartimentales, ya sean mono, bi o tricompartmentales, es el más utilizado para las administraciones parenterales en los rumiantes, permitiendo estos modelos, en algunas ocasiones, sacar conclusiones a partir del conocimiento anatómico y fisiológico de los compartimentos.

Sin embargo, en la administración oral de los fármacos a los rumiantes debido a las peculiaridades anatomo-fisiológicas descritas con anterioridad, el ajuste de los datos plasmáticos presenta grandes dificultades. KORITZ (1987) propuso un modelo farmacocinético fisiológico-compartmental, postulando que para una comprensión adecuada de los procesos que sufre un fármaco cuando es administrado oralmente a un rumiante se requiere considerar factores tanto fisiológicos como farmacocinéticos, puesto que si los datos de concentración plasmática fueran ajustados a un modelo compartimental clásico estaríamos pasando por alto factores que afectan al proceso cinético. Sin embargo, este modelo es de difícil aplicación ya que son necesarios un gran número de datos para su utilización.

En general, la mayoría de los autores coinciden en analizar las concentraciones plasmáticas tras la administración oral en rumiantes adultos desde un punto de vista no compartimental (MANN y FRAME, 1992; OUKESSOU y TOUTAIN, 1992) en el que todas las vías de absorción y eliminación del fármaco y todos los procesos que contribuyen a ellas están asociados a un compartimento central, independientemente del lugar en que se produzcan. Este análisis no

compartimental es más simple, y tiene la ventaja de ser práctico ya que nos permite el cálculo de los principales parámetros farmacocinéticos, especialmente la biodisponibilidad que es en definitiva el principal factor limitante del uso de esta vía de administración en los rumiantes adultos.

Por todo ello, en este trabajo hemos analizado compartimentalmente las curvas de concentración plasmática tras la administración intravenosa e intramuscular en ovejas y para la administración oral en corderos (ya que estos pueden ser considerados como monogástricos) mientras que para la administración oral en ovejas y para las concentraciones ruminales sólo pudimos analizar los resultados mediante un análisis no compartimental.

Para el cálculo de las biodisponibilidades utilizamos el AUC_{0-t} calculado por el método trapezoidal (BAGGOT, 1983), independiente del método farmacocinético utilizado para el ajuste de las concentraciones plasmáticas.

V.2.- DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Para la discusión de los resultados hemos analizado previamente las concentraciones plasmáticas obtenidas tras la administración de norfloxacin por diferentes vías a ovejas y a corderos, y a continuación las concentraciones ruminales en ovejas; por último se realizará un estudio comparativo sobre la influencia de la edad en el comportamiento farmacocinético de la norfloxacin en óvidos. De todo ello se valorarán las posibles consecuencias terapéuticas.

V.2.1.- ADMINISTRACION INTRAVENOSA EN OVEJAS

El embotamiento o somnolencia observada después de la administración intravenosa de la norfloxacin puede ser debido a los efectos neurotóxicos descritos tanto en rumiantes para la flumequina (MEVIUS y col., 1990) como en otras especies (DORRESTEIN y col., 1983) y para otras quinolonas (LAMELAND y col., 1981; NEU, 1988). Estos son atribuibles a que tras las altas concentraciones plasmáticas conseguidas en los primeros minutos post-administración se puede producir el paso de la quinolona a través de la barrera hemato-encefálica.

Tras la administración intravenosa de norfloxacin en ovejas, el modelo farmacocinético que mejor describía su comportamiento a partir de los criterios de discriminación de modelos utilizados fue el tricompartmental.

Los datos publicados tras la administración de norfloxacin por vía intravenosa en otras especies coinciden en señalar un comportamiento bicompartimental, BROWN y col. (1990) en perro, ANADON y col. (1992) en pollo, HOLMES y col. (1985) en el hombre y KUSAJIMA y col. (1986) en ratón, rata, conejo y perro. Si bien, existen referencias bibliográficas que describen

comportamientos tricompartmentales de otras quinolonas administradas por vía intravenosa a terneros rumiantes, MEVIUS y col. (1991) en el caso de la flumequina y FRIIS (1991b) para la danofloxacin.

Nuestros resultados pudieron también ser ajustados a un modelo bifásico, aunque el modelo tricompartmental mostraba un mejor ajuste tanto en los valores de r como en los del criterio de Akaike que era menor en todas las ovejas excepto en la A. Es posible que el hecho de haber tomado muestras de sangre en los dos primeros minutos haya podido influir en la disposición tricompartmental, puesto que en la oveja A de la que no disponemos de esos datos y en aquellos trabajos de otros autores en los que no figuran tomas tan tempranas la norfloxacin se adapta mejor a un modelo bicompartmental (KUSAJIMA y col., 1986).

La norfloxacin se distribuye con rapidez tras su administración intravenosa, como indican los valores de $t_{1/2\alpha}$ (1,08 min) y $t_{1/2\beta}$ (10,32 min) obtenidos; a continuación la concentración plasmática disminuye más lentamente obteniéndose una semivida de eliminación de 754,93 minutos. La evolución de las concentraciones plasmáticas de norfloxacin en el tiempo podría indicar la existencia de un compartimento periférico superficial que alcanza con rapidez el equilibrio y caracterizado por un alto aclaramiento intercompartmental que es el responsable de la rápida disminución de las concentraciones plasmáticas de la norfloxacin y un compartimento periférico profundo con aclaramientos más lentos.

Los parámetros que describen la eliminación del fármaco K_{10} , $t_{1/2\gamma}$, Cl, y MRT, evidencian la lenta eliminación de la norfloxacin en las ovejas, así los resultados obtenidos para $t_{1/2\gamma}$ en el análisis tricompartmental y $t_{1/2\beta}$ en el bicompartmental están en torno a las 12 horas, las de Cl entre 0,075 y 0,0071 l/hkg y el MRT es de 17,45 horas.

Comparando con los trabajos realizados en otras especies, observamos que la eliminación de la norfloxacin es más lenta tras su administración intravenosa en la oveja que en el perro $t_{1/2\beta}$ de 3,5 horas (HOLMES y col., 1985) y en el pollo 8,0 horas (ANADON y col., 1992).

En el hombre, la semivida de eliminación de la norfloxacin se sitúa en torno a las 3,25 h, no pareciendo existir fenómenos de acumulación plasmática tras las administraciones repetidas (STEIN, 1987).

Si los comparamos con otras quinolonas en rumiantes adultos, se observa que también su eliminación es lenta; MEVIUS y col. (1991) obtienen valores de $t_{1/2\gamma}$ = 8,21 horas y de Cl_{β} = 0,24 l/h Kg para la flumequina, mientras que la danofloxacin parece eliminarse más rápidamente $t_{1/2\beta}$ = 4,01 h y el Cl_{β} = 0,46 l/h/kg (GILES y col., 1991) y $t_{1/2\beta}$ = 2,9 h (MANN y FRAME, 1992). Sin embargo, los resultados obtenidos para la danofloxacin por FRIIS (1991b) en terneros de 4-6 semanas en transición a rumiantes indican una eliminación más lenta en este grupo de edad ($t_{1/2\gamma}$ = 6,3-7,4 h. y Cl_{β} = 0,55 l/h/kg).

En el caso de la ciprofloxacina, los resultados obtenidos por LLOVERIA (1992) tras la administración intravenosa a ovejas muestran que esta fluoroquinolona se elimina rápidamente en los óvidos adultos con un $t_{1/2\beta}$ = 1,44 h y Cl_{β} = 0,96 l/hkg, siendo la eliminación más rápida que la obtenida por NOUWS y col. (1988) en terneros prerrumiantes que se sitúa en torno a las 2,44 h, estos son los valores más bajos encontrados en las diferentes especies.

Hay grandes diferencias en cuanto al volumen de distribución encontrado para la norfloxacin entre las distintas especies, así ANADON y col. (1992) obtienen en pollo un V_{ee} tras la administración intravenosa de 3,14 l/kg; mientras que el valor obtenido en perros por BROWN y col. (1990) es menor (V_{ee} = 1,47 l/kg).

El $V_{ee} = 1,05$ l/kg obtenido en nuestro estudio es menor que el encontrado en pollos (ANADON y col., 1992) pero semejante al descrito en perros (BROWN y col., 1990) este valor indica una buena distribución de la norfloxacin en la oveja tras su administración intravenosa. Esta distribución incluye el agua extracelular y gran parte del agua intracelular, ya que el valor obtenido para el volumen de distribución en el compartimento central fue $V_c = 0,108$ l/kg. .

Por otra parte, los valores de las constantes de transferencia del compartimento central al profundo (K_{13}) y de retorno (K_{31}) son respectivamente $0,157 \text{ min}^{-1}$ y $0,020 \text{ min}^{-1}$, indicando la retención de la norfloxacin en este compartimento y la probable fijación a algún componente tisular. En este sentido la relación existente entre las constantes de transferencia K_{13}/K_{31} toma valores de 7,68 y este alto valor indicaría la rapidez de salida del fármaco del compartimento central con respecto a su retorno y la acumulación del fármaco en dicho compartimento periférico.

Sin embargo, la aparente acumulación de la norfloxacin en el compartimento periférico no parece influir en su eliminación, ya que el cociente entre la constante de retorno del fármaco al compartimento central y la constante de eliminación (K_{31}/K_{10}) toma un valor de 1,80 y este alto valor indicaría que el retorno de la norfloxacin al compartimento central no condicionaría su eliminación. Este hecho es muy evidente tras el análisis bicompartimental en el cual el cociente K_{21}/K_{10} toma valores de 3,91, y demostraría que la transferencia desde el compartimento periférico al central no es un factor limitante para la eliminación de la norfloxacin.

V.2.2.- ADMINISTRACION INTRAMUSCULAR EN OVEJAS

Debido a la extensa utilización de la administración intramuscular en rumiantes como consecuencia de la baja biodisponibilidad y de las alteraciones que puede ocasionar la administración oral, consideramos oportuno estudiar el comportamiento farmacocinético de la norfloxacin por esta vía.

Los datos obtenidos a partir de las curvas de concentración plasmática frente al tiempo se ajustaron a un modelo monocompartimental con absorción y eliminación de primer orden y no pudieron ajustarse a modelos pluricompartimentales como en el caso de la administración intravenosa, y esto, es debido probablemente a que tras la administración intramuscular se produce un solapamiento entre la fase de absorción y la fase de distribución rápida (WAGNER y col., 1983; GIBALDI y col., 1982).

En general, los autores coinciden en señalar el modelo monocompartimental como el que mejor representa el comportamiento de las quinolonas administradas por vía intramuscular a los rumiantes (MEVIUS y col., 1991), si bien, otros autores analizan las concentraciones desde un punto de vista no compartimental (GILES y col., 1991; MANN y FRAME, 1992).

Al analizar los parámetros farmacocinéticos compartimentales nos encontramos con unas grandes variaciones interindividuales en los parámetros que definen la fase de absorción, K_{01} y $t_{1/2K01}$, que nos impiden definir claramente las características de absorción de la norfloxacin administrada intramuscularmente y que inciden en las diferencias de t_{max} obtenidas.

Estos mismos problemas fueron encontrados por SANTOS (1992) para la administración intramuscular de ciprofloxacina a ovejas, que obtiene unas C.V. para

K_{01} en torno al 97,5 %, tras su análisis monocompartimental. Esta misma falta de homogeneidad en cuanto a la absorción de quinolonas administradas intramuscularmente ha sido descrita por otros autores (MEVIUS y COL., 1991) y en general es atribuida a la baja solubilidad de las quinolonas a los pH tisulares.

La norfloxacin a al pH muscular es poco soluble y además es susceptible de precipitar formando cristales que actuarían como una verdadera formulación depot de la norfloxacin a en el músculo y que justificarían la falta de homogeneidad y la lentitud de su absorción tras su administración intramuscular, este fenómeno fue descrito por DORRESTEIN y col.(1983) para la flumequina a palomas.

Por otra parte, la formulación ácida (pH = 2,05) empleada para esta administración, produce un efecto irritante causando un incremento de la irrigación en el lugar de inyección, lo cual justificaría la falta de homogeneidad en la absorción (NOUWS y col. 1982), y podría ser la causa de las diferencias en los valores de T_{max} obtenidos.

Observando la figura IV.9 se aprecia la variabilidad que presentan, que va desde una evolución en meseta (oveja A) a una evolución en pico único (oveja E) o en doble pico (ovejas B y D). Esto podría llevarnos a pensar en un doble sistema de absorción, uno lento debido a la formación de cristales intramusculares y otro de gran velocidad como consecuencia de la irritación.

Al igual que en el caso de la administración intravenosa, la velocidad de eliminación de la norfloxacin a tras la administración intramuscular es lenta, los resultados obtenidos en el análisis compartimental para $K_{10} = 0,0012 \text{ min}^{-1}$ y en el análisis no compartimental $\beta = 0,0009 \text{ min}^{-1}$ así lo demuestran, siendo la velocidad de eliminación homogénea en todos los animales estudiados y los valores de semivida de eliminación de $t_{1/2K10} = 10,6 \text{ h}$ y $t_{1/2\beta} = 12,49 \text{ h}$, análogos a los

encontrados para la administración intravenosa que estan en torno a las 12 h.

Estos parámetros de eliminación coinciden con los obtenidos por MEVIUS y col. (1991) tras la administración intramuscular de flumequina a rumiantes ($t_{1/2\beta} = 11,94$ y $\beta = 0,0011 \text{ min.}^{-1}$). Si bien, para otras fluoroquinolonas, esta eliminación parece ser más rápida, así, GILES y col. (1991) obtienen una $t_{1/2\beta} = 3,86 \text{ h}$ y MANN y FRAME (1992) una $t_{1/2\beta} = 2,9 \text{ h}$ para la danofloxacin en terneros y SANTOS (1992) una $t_{1/2\beta} = 3,15 \text{ h}$ para la ciprofloxacina en ovejas.

Las AUC presentan una gran variabilidad que se va a traducir en los diferentes valores de biodisponibilidad obtenidos. En conjunto, la biodisponibilidad media obtenida en nuestro estudio para esta via fue del $31,61 \pm 6,19 \%$, y este valor es muy inferior al obtenido por otros autores, asi, MEVIUS y col. (1991) obtienen una $F = 78,5 \%$ para flumequina, GILES y col. (1991) obtienen una F virtualmente completa tras su administración intramuscular de danofloxacin mientras que MANN y FRAME (1992) obtienen un valor del 78% tambien para la danofloxacin. Si bien, es necesario mencionar, que estos autores utilizaron para la administración fórmulas comerciales, mientras que en la formulación empleada por nosotros se había tenido en cuenta sólo la solubilidad de la norfloxacina y no otros factores como la liberación homogénea del compuesto, irritación, etc.. Debemos señalar que tras la aplicación de este preparado las ovejas no presentaron claudicación ni molestias en la zona de inyección en los días posteriores al experimento.

La influencia de la formulación queda patente en los trabajos de ZIV y col., (1986) que obtuvieron con una formulación soluble una biodisponibilidad virtualmente completa, y en el mismo experimento y con una formulación oleosa la biodisponibilidad fue del 44% . SANTOS (1992) tras la administración intramuscular de ciprofloxacina en solución glucosada en ovejas obtiene $F = 49 \%$, mientras que

para la flumequina DORRESTEIN y col (1983) obtiene una biodisponibilidad del 22 % para una suspensión comercial de flumequina en palomas.

El volumen de distribución toma un valor de 0,97 l/kg tras la administración intramuscular, valor análogo al obtenido en la administración intravenosa, al igual que ocurre con el aclaramiento plasmático, confirmando la homogeneidad en la distribución y eliminación.

V.2.3.- ADMINISTRACION ORAL EN OVEJAS

Existe poca información sobre la administración de quinolonas por vía oral a los rumiantes. Los pocos trabajos publicados coinciden en señalar unas biodisponibilidades bajas, inferiores al 10 % administración oral (VANCUTSEN y col., 1990; SUMANO, 1990). En nuestro estudio las concentraciones plasmáticas obtenidas tras la administración oral en ovejas, indican una rápida absorción de la norfloxacin, encontrándose en todos los animales concentraciones en un rango entre 0,3-1,27 $\mu\text{g/ml}$ a los 20 minutos post-administración. Estos datos son semejantes con los presentados por ZIV (1976), que obtiene concentraciones plasmáticas detectables de ácido oxolínico 15 minutos post-administración oral en rumiantes adultos.

La biodisponibilidad obtenida para la norfloxacin, $4,04 \pm 1,14$ % testada en las 48 h siguientes a la administración, está en el rango de las obtenidas por otros autores tras la administración oral de quinolonas a rumiantes adultos (MANN y FRAME, 1992; SANTOS, 1992).

MANN y FRAME (1992), tras la administracion oral de danofloxacin a razón de 5 mg/kg, obtienen niveles plasmáticos en todos los tiempos testados iguales o inferiores a su nivel mínimo de detección (0,05 $\mu\text{g/ml}$), atribuyendo la pobre absorción a la dilución de la danofloxacin en el volumen retículo-ruminal, a su posible unión a la ingesta y a la lentitud del tránsito digestivo.

ZIV (1976) para el ácido oxolínico en terneros en transición a rumiantes obtiene una absorción pobre y dosis-dependiente y SANTOS (1992) tras la administración oral de ciprofloxacina a ovejas adultas a diferentes dosis obtiene biodisponibilidades inferiores al 10 %.

La baja biodisponibilidad de los quimioterápicos administrados oralmente a los rumiantes es un hecho ampliamente estudiado, pero muy variable según las peculiaridades físico-químicas de cada molécula en particular y la forma de administración.

Así, mientras que NAWAZ y KAHN (1991) obtienen valores de biodisponibilidad para la ampicilina del 56 % en cabras y del 63 % en ovejas, OUKESSOU y TOUTAIN (1992) con otra formulación farmacéutica obtienen solamente entre el 2-3 %.

Moléculas altamente liposolubles a los pH ruminales como la sulfadoxina, poseen una biodisponibilidad en cabras adultas del 66 % y en vacas del 80 % (NIELSEN y col., 1978), mientras que solo el 10,3 % del trimetoprin es absorbido a diferencia de lo que ocurre con el aditoprin que lo hace en cerca del 71 %, atribuyendo KNOPPERT y col. (1978) que estas diferencias se deben a que el aditoprin posee una mayor liposolubilidad y es metabólicamente más estable en los proventrículos de los rumiantes adultos.

En definitiva, la dilución del fármaco en el gran volumen rumino-reticular (16 l en la oveja), la baja relación superficie absorptiva/volumen, así como la capacidad de la microbiota de metabolización-inactivación del fármaco, dando lugar a una verdadera eliminación presistémica de este, van a actuar como factores limitantes en la consecución de biodisponibilidades óptimas en los rumiantes adultos (DE BACKER y BOGAERT, 1982).

Adicionalmente, la biodisponibilidad de la norfloxacin no es excesivamente alta incluso en las especies de monogástricos, 30-40 % en el hombre (NEUMAN y col., 1988), 57 % en pollo (ANADON Y col., 1992) y muy variable en el perro $35,0 \pm 46,1$ % (BROWN y col., 1990). Esto es probablemente debido a las

particularidades fisico-químicas de la molécula de norfloxacin en la que la asociación de un grupo ácido (ácido carboxílico) y de un grupo básico (amina terciaria) proporcionan a esta un carácter anfótero que hace que su liposolubilidad sea baja excepto en un rango de pH entre 6-8, que no son los pH habituales del aparato digestivo (VANCUTSEN y col., 1990).

Los pK_a de los grupos funcionales de la molécula de norfloxacin (8,2 y 6,7) y su punto isoeléctrico de 7,5, indican que esta molécula va a estar poco ionizada en tanto esta circulando en el plasma pero a valores de pH más altos o más bajos que los plasmáticos, como es el caso del ruminal, se pueden producir fenómenos de atrapamiento como consecuencia de la ionización de la molécula (DALHOFF, 1989). El cálculo de los coeficientes de ionización de la norfloxacin al pH ruminal a partir de la ecuación de Henderson-Hasselbalch así lo demuestran (Tablas IV.21 y IV.22).

Por otra parte, no podemos desestimar la posibilidad de inactivación-metabolización de la molécula de norfloxacin por los microorganismos de los proventrículos puesto que, este hecho, ha sido descrito para numerosos quimioterápicos (BOGAN y MARRINER, 1989; SCHMIDT y LOSERTH, 1989; BRADLEY y col., 1989; SOBACK y col., 1987; NIELSEN y col., 1978; VYNCKIER y DEBACKERE, 1993; FRIIS, 1991a). Sin embargo, al no haber realizado pruebas de metabolización mediante incubación anaeróbica de la norfloxacin en el contenido ruminal, no podemos en nuestro caso asegurar este hecho; aunque como veremos posteriormente la degradación no parece ser un factor importante dado los altos valores obtenidos en el contenido ruminal que permiten encontrar niveles detectables a las 48 h post-administración.

El valor de las concentraciones plasmáticas tras la administración oral es bastante homogéneo en el tiempo. Las C_{max} obtenidas para los diferentes animales son similares ($1,53 \pm 0,29 \mu\text{g/ml}$), si bien los tiempos de consecución de las

mismas (T_{max}) varían mucho entre los animales presentándose entre las 10-24 h post-administración, aunque ya a los veinte minutos nos encontramos concentraciones importantes que oscilan entre 0,3-1,27 $\mu\text{g/ml}$.

ZIV (1976) tras la administración oral en ovejas de ácido oxolínico obtiene las C_{max} entre 7-10 h post-administración, siendo esta quinolona detectable en el plasma hasta 24 h post-administración.

En nuestro caso, el tiempo de permanencia de la norfloxacin en el plasma es mayor, encontrándose niveles a las 48 h post-administración en un rango de 0,48-1,04 $\mu\text{g/ml}$, el alto valor de MRT_t (24,43 h) lo pone de manifiesto, siendo más elevado que en la administración intravenosa ($MRT_t = 17,45$ h).

Tras el estudio de la evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas medias de las 5 ovejas estudiadas, se observan picos de concentración plasmática entre los 40-60 minutos y a las 4 h post-administración, en general coincidentes con el comportamiento individual de las mismas.

Para la explicación de las diferencias obtenidas en cuanto a la presentación de los picos plasmáticos de la norfloxacin es necesario considerar el pobre mezclado que se produce entre la fase acuosa y la fase sólida en el rumen, que tiene tendencia a estratificarse, por lo que cada fármaco, dependiendo de su particular solubilidad en cada fase tendera a depositarse o no en ella. Por otra parte la posibilidad de que un fármaco disuelto en el contenido ruminal sufra fenómenos de adsorción con la materia sólida (BOGAN y MARRINER, 1987) o quelación, adquiere una gran importancia en el caso de las quinolonas. Se ha descrito la quelación de los grupos carboxílicos presentes en estas moléculas por los cationes bivalentes (JANKNEGHT, 1990; STAHLMAMM y LODE; 1981; VANCUTSEM y col., 1990) y la presencia de estos cationes en el estrato sólido ruminal es grande, por

lo que la posibilidad de formación de complejos quelantes es alta.

A partir de los resultados de tiempo de aparición de los fármacos en el abomaso se ha descrito que la fase acuosa progresa para producir concentraciones máximas del fármaco en el abomaso entre las 2,5-4 h de la administración oral (COOKE y NICHOLSON, 1981), aproximadamente a las 6 h (BOGAN y MARRINER, 1987), o entre las 6-10 h (FAICHNEY, 1984), por lo que podemos atribuir la presentación de los picos plasmáticos de norfloxacin, que se producen alrededor de las 4 h, a la fracción de la quinolona disuelta en la fase acuosa del rumen.

Sin embargo, para las dietas secas, los tiempos descritos para la llegada del fármaco al abomaso son más homogéneos oscilando entre las 7-14 h post-administración oral (DOBSON, 1967) y puesto que las C_{max} de norfloxacin se obtenían entre las 10-12 h post-administración podríamos pensar en que la mayor parte de la norfloxacin administrada se va a encontrar en la fase sólida del contenido ruminal probablemente formando quelatos.

Por otra parte, la fase sólida del contenido ruminal tiende a salir a través del orificio retículo-omasal más despacio que la fase líquida y la posibilidad de unión del fármaco a la materia sólida contribuye a su mayor permanencia en el rumen y ésto redundar tanto en el retraso de su absorción en porciones posteriores del tracto digestivo como en un mayor tiempo de exposición a la acción degenerativa-metabólica de la microflora ruminal.

La presencia de altas concentraciones plasmáticas de norfloxacin 48 h post-administración oral en un rango entre 0,48-1,04 $\mu\text{g/ml}$ es un hecho doblemente explicable puesto que por una parte ya ha sido discutida la lenta eliminación plasmática de la norfloxacin en ovejas, en nuestro trabajo el valor de $t_{1/2\gamma} = 12,58$

h y de $MRT = 17,45$ h tras la administración intravenosa así lo ponen de manifiesto y en segundo lugar tras la administración oral los animales permanecieron en inanición durante 24 h permitiéndoseles tan solo la admisión de agua, habiendo sido descrita la posibilidad de un incremento del tiempo de permanencia de la fase sólida en el rumen hasta 48 h durante la inanición (DOBSON, 1967).

En cuanto a la presentación del primer pico plasmático en la primera hora post-administración es explicable en tanto en cuanto se ha descrito que un fármaco administrado oralmente en solución líquida (sin elementos sólidos en suspensión) administrada oralmente a un rumiante en volumen suficiente, puede dar lugar a un estrato independiente dentro del contenido ruminal. Este estrato, de menor densidad que la fase líquida ruminal puede progresar parcialmente y de forma rápida hacia los siguientes proventículos y alcanzar el abomaso de la oveja aproximadamente 1 h post-administración (LANUSSE y col., 1993).

Sin embargo, a pesar de todas estas consideraciones los valores individuales para AUC_t ($2075,18 \pm 174,90 \mu g \cdot \text{min/ml}$) y MRT_t ($1466,01 \pm 35,78 \text{ min}$) ponen de manifiesto la homogeneidad en la absorción tras la administración oral de la norfloxacin en los animales estudiados.

V.2.4.- ADMINISTRACION INTRAVENOSA EN CORDEROS

Al igual que ocurría en el caso de las ovejas, la evolución de las concentraciones en el tiempo tras la administración intravenosa de norfloxacin a corderos eran susceptibles de ser ajustadas a modelos farmacocinéticos bi y tricompartmentales, si bien, a la vista de los valores de r y AIC obtenidos, elegimos el ajuste tricompartmental.

No existen datos sobre la farmacocinética de la norfloxacin en animales rumiantes. La mayoría de los autores coinciden en señalar un comportamiento bicompartimental de la norfloxacin administrada por vía intravenosa, tanto en el hombre como en otras especies (HOLMES y col., 1985; BROWN y col., 1990; ANADON y col., 1992; KUSAJIMA y col., 1986).

Habiéndose señalado también comportamientos bicompartimentales para otras quinolonas administradas por vía intravenosa a los terneros prerrumiantes, para la flumequina (ZIV y col., 1986) y para la ciprofloxacina (MEVIUS y col., 1990; NOWS y col., 1988).

Sin embargo, tras nuestros estudios, el ajuste tricompartmental nos parece el más adecuado, coincidiendo en este sentido con los trabajos publicados por MEVIUS y col. (1991) para la flumequina y FRIIS (1991b) para la danofloxacina.

Tras su administración intravenosa, la norfloxacin se distribuye más lentamente en los corderos ($t_{1/2\alpha} = 3,60$ min y $t_{1/2\beta} = 88,08$ min) que en las ovejas ($t_{1/2\alpha} = 1,80$ min y $t_{1/2\beta} = 10,32$ min). Los parámetros que definen la eliminación son análogos en ambos grupos de edad ($t_{1/2\gamma} = 12$ h en las ovejas y 13,5 h en los corderos), si bien, el aclaramiento plasmático de la norfloxacin parece ser más alto

en los corderos (0,32 l/h/kg) que en las ovejas (0,075 l/h/kg). En nuestro trabajo, encontramos dos comportamientos claramente distintos en cuanto a la eliminación de la norfloxacin en los corderos tras su administración intravenosa, así, mientras los corderos 1, 3 y 5 presentan unos valores de aclaramiento plasmático de 0,51, 0,41 y 0,44 (l/h/kg), el aclaramiento de la norfloxacin en los corderos 2 y 5 es respectivamente de 0,11 y 0,12 (l/h/kg), siendo por tanto estos valores de aclaramiento mucho menores.

La semivida de eliminación de la norfloxacin en corderos es más prolongada que la obtenida para otras quinolonas en prerrumiantes tras administración intravenosa, si bien los resultados obtenidos por los diferentes autores presentan una gran variabilidad; así mientras que ZIV y col. (1986) en rumiantes estrictos (3-5 semanas) obtienen una $t_{1/2\beta} = 2,25$ h para la flumequina, MEVIUS y col. (1989, 1990) en terneros prerrumiantes de diferentes edades (1,2,5,6 y 18 semanas) obtienen una $t_{1/2\beta}$ en torno a las 7 horas para la flumequina. La eliminación de la ciprofloxacina en prerrumiantes presenta valores semejantes a los obtenidos por ZIV (1986) para la flumequina ($t_{1/2\beta} = 2,5$ h)(NOUWS y col., 1988).

En conjunto no se han encontrado diferencias sustanciales en los tiempos de eliminación entre los animales rumiantes y los prerrumiantes para la flumequina en los trabajos realizados por MEVIUS y col. (1989, 1990, 1991) y para la ciprofloxacina en los trabajos realizados por NOUWS y col. (1988) y LLOVERIA (1992).

En el caso de la danofloxacin, los resultados publicados parecen señalar que la eliminación es más lenta en los prerrumiantes ($t_{1/2\gamma} = 6,3-7,4$ h) (FRIIS, 1991b) que en los rumiantes ($t_{1/2\beta} = 4,01$ h) (GILES y col., 1991). Quedando patente que la semivida de eliminación en los corderos obtenida en nuestro estudio es netamente superior a la obtenida para otras fluoroquinolonas en prerrumiantes por otros

autores.

El volumen de distribución obtenido para la norfloxacin en los corderos es muy alto ($V_{ee} = 4,52$ l/kg) y un $V_{dc} = 0,57$ l/kg, indicando la excelente distribución en los animales prerrumiantes y siendo estos valores muy superiores a las obtenidos en nuestro trabajo para la administración intravenosa en las ovejas tanto para $V_{ee} = 1,05$ l/kg como para $V_{dc} = 0,108$ l/kg, y a los obtenidos en otras especies para la norfloxacin, $V_{ee} = 1,47$ l/kg en el perro (BROWN y col., 1990) y 3,14 l/kg en el pollo (ANADON y col., 1992).

El volumen de distribución obtenido para la norfloxacin en los corderos es de un valor considerablemente más alto que el del total del agua corporal y esto podría sugerir la posibilidad de que la norfloxacin pueda concentrarse en ciertos tejidos como sugiere GILES y col. (1991) en el caso de la danofloxacin, sin embargo, la falta de datos sobre su distribución tisular, nos impide confirmar este hecho.

Las diferencias de V_{ee} y V_c encontradas entre ovejas y corderos son probablemente atribuibles a las particularidades farmacocinéticas dependientes de la edad; puesto que es un hecho conocido que en los mamíferos el total del agua corporal es significativamente de un valor más elevado en el nacimiento y que posteriormente disminuye con el desarrollo. En este sentido los volúmenes de distribución encontrados para fármacos polares son mucho más elevados para los neonatos que para los adultos de la misma especie, una molécula anfótera como la norfloxacin seguiría esta pauta de distribución (WAGNER, 1983; DE BACKER, 1985).

Por otra parte, las concentraciones de proteínas plasmáticas en el neonato son

significativamente más bajas que en el adulto y así puesto que la unión del fármaco a las proteínas séricas es menor en el neonato, se alcanzarían mayores volúmenes de distribución en las primeras semanas de vida (DE BACKER, 1985).

La relación existente entre las constantes de transferencia K_{13}/K_{31} toma un valor de 3,64, lo que indica cierta acumulación de la norfloxacin en los compartimentos periféricos, si bien esta es mucho menor que en el caso de las ovejas en donde dicho cociente toma un valor de 7,68.

A diferencia de lo que ocurre en las ovejas, la relación K_{31}/K_{10} toma en los corderos el valor de 0,35, por lo que en el caso de los prerrumiantes, la transferencia desde el compartimento profundo al central puede influir en la eliminación de la norfloxacin. Si bien, a la vista de los resultados obtenidos en el aclaramiento este hecho no va a revestir excesiva importancia.

Es necesario considerar en este sentido la diferencia de pH urinario existente entre los animales prerrumiantes y rumiantes, así debido a las diferencias de alimentación, el pH de los prerrumiantes es menor de 7, mientras que en los rumiantes es mayor de 7 (MEVIUS y col., 1990) y estas diferencias pueden haber influido en la eliminación de la quinolona.

Así para la sulfadoxina, se ha descrito que $t_{1/2\beta}$ disminuye progresivamente en corderos desde el nacimiento a la madurez, y esto fue explicado por los cambios en el pH urinario que pasa de 6,7 a 8,0 entre las 6 y las 8 semanas de edad (WATSON y col., 1987), coincidiendo estos resultados con los obtenidos por NIELSEN y col. (1978). Puesto que se ha descrito la posibilidad de reabsorción tubular para las quinolonas (SÖRGEL y KINZIG, 1993), es lógico pensar en la influencia del flujo urinario y del pH sobre esta. En el caso de la norfloxacin, la ionización de la molécula va a ser mayor en las orinas ácidas de los animales

prerrumiantes y por tanto la posibilidad de reabsorción tubular sería menor y esto podría justificar que el valor de aclaramiento plasmático sea mayor en los corderos, junto con el menor porcentaje de unión en estos a las proteínas plasmáticas (DE BACKER, 1985; WAGNER, 1983).

V.2.5.- ADMINISTRACION ORAL EN CORDEROS

A la vista de los resultados obtenidos tras la administración oral en corderos, debemos destacar la gran variabilidad que presentan. Este hecho nos llevará a realizar en algunos casos un estudio individualizado, si bien utilizaremos los valores medios para comparar con los datos aportados por otros autores.

Tras la administración oral en corderos, la absorción de la norfloxacin es rápida, encontrándose niveles detectables entre los 10-20 min post-administración. La semivida de absorción ($t_{1/2K01}$) a partir del análisis monocompartimental de los datos, toma valores medios de 41,66 min, estando en el rango de las obtenidas para otras quinolonas en prerrumiantes (ZIV y col., 1986; NOUWS y col., 1988).

La concentración plasmática máxima se obtiene entre las 3-6 h post-administración, lo que supone un retraso en la absorción oral de la norfloxacin en los prerrumiantes comparada con la obtenida por otros autores en otras especies, así, el t_{max} para la norfloxacin en el hombre es de 1,5 h (ADHAMI y col., 1983), en el pollo 0,22 h (ANADON y col., 1992) y en los perros entre 1-2 h (BROWN y col., 1990; WALKER y col., 1989); y del mismo modo, los valores de t_{max} obtenidos para otras quinolonas tras la administración oral a prerrumiantes, son algo menores a los obtenidos en nuestro trabajo para la norfloxacin, estando en el rango de 2-4 h post-administración (MEVIUS y col., 1989, 1990; ZIV y col., 1986; NOUWS y col., 1998).

Al hablar del desarrollo post-natal del aparato digestivo de los rumiantes, hemos dividido este en tres períodos fundamentales: un primer período prerrumiante estricto hasta las tres semanas de vida, un período de transición entre las 3-8 semanas y un último, rumiante propiamente dicho, desde la octava semana de vida

(DE BACKER y BOGAERT, 1982).

Los corderos utilizados en este trabajo tenían una edad de tres semanas, pero como en cualquier proceso en desarrollo los períodos no son estrictos y podrían presentar diferencias dependientes del grado de funcionalidad de los proventrículos en cada caso en particular (CONLINE y TITCHEN, 1962; RUCKEBUSCH, 1977). Por otro lado se debe tener en cuenta la capacidad de cierre de la gotera reticular en el momento de la administración del fármaco, pudiendo existir la posibilidad de un cierre parcial (McEWAN y OAKLEY, 1978).

Por esta razón se pueden encontrar tiempos de concentración plasmática máxima dependientes de la ruta adoptada por el fármaco, en definitiva, directamente hacia el abomaso, con el concurso del cierre de la gotera reticular, o bien hacia el retículo-rumen.

Cuando se produce el cierre de la gotera reticular, se ha descrito que la ingesta tarda entre 1-1,5 h en llegar al duodeno (KORITZ, 1982), y este hecho puede explicar la presencia de los picos de concentración plasmática de norfloxacin determinada en los corderos en la primera hora post-administración, a partir de la posibilidad de que una parte de solución de fármaco administrada pase hacia el abomaso y la restante hacia el retículo-rumen.

Otra posibilidad es que parte del fármaco administrado pase hacia los proventrículos en aquellos corderos que presenten un mayor grado de desarrollo y puesto que a esta edad se ha descrito que el pH ruminal toma valores de 6-8 (DE BACKER y BOGAERT, 1982), la norfloxacin va a estar en estas condiciones muy poco ionizada, por lo que podría absorberse a este nivel y por tanto puede producirse una absorción parcial de esta en los primeros momentos post-administración. La absorción de la norfloxacin por el epitelio retículo-ruminal, va a ser lenta a pesar

que el grado de queratinización es mínimo.

Puesto que no es esperable que la norfloxacin se absorba en el abomaso, debido a las condiciones ácidas el medio, las quinolonas se absorberán eficientemente en duodeno y esta absorción correspondería con las concentraciones máximas alcanzadas entre las 3 y las 6 horas post-administración en los corderos, puesto que se ha descrito que en las fases acuosas tardan en llegar al abomaso entre 2,5 y 4 horas (COOKE y NICHOLSON, 1981). Esta absorción en los diferentes tramos gastrointestinales podría explicar las oscilaciones que sufren las concentraciones plasmáticas.

El cordero 1 de la prueba oral se comporta a diferencia de los otros cuatro como un prerrumiante estricto, la evolución en el tiempo de sus concentraciones plasmáticas así lo ponen de manifiesto,.

Las concentraciones máximas de norfloxacin en este cordero se presentaron con un t_{max} entre 3-5 h post-administración, lo que supone cierto retraso en la absorción de la norfloxacin con respecto a la descrita para otras quinolonas en los prerrumiantes, que se sitúan entre 2-4 h (MEVIUS y col., 1989, 1990; ZIV y col., 1986; NOUWS y col., 1988).

Una posible explicación de este retraso puede ser la fuerte unión que se produce entre las quinolonas y los cationes bivalentes (STAHLMANN y LODE, 1988; JANKNEGHT, 1990), así, la norfloxacin unida al Ca^{++} presente en la leche materna puede dar lugar a un retraso en la absorción como se ha descrito previamente (MEVIUS y col., 1989) no obstante no se les permitió mamar durante la primera hora de nuestro experimento.

La semivida de eliminación tras la administración oral a corderos $T_{1/2k10}$ toma

valores medios de 22,72 h tras el análisis compartimental de los datos y es análoga a la obtenida en el modelo no compartimental existiendo como para los demás parámetros farmacocinéticos amplias variaciones interindividuales que van desde 7,47 h a 48 h.

La eliminación de la norfloxacin en los prerrumiantes es más lenta que las obtenidas por otros autores en monogástricos, así en el pollo, tras la administración oral, $t_{1/2\beta}$ toma valores entre 12-13 h (ANADON y col., 1989, 1992), en el perro aproximadamente de 6 h (BROWN y col., 1990; WALKER y col., 1990) y en el hombre se sitúa en 3,25 h (STEIN, 1987), siendo las semividas de eliminación de otras fluoroquinolonas, tras la administración oral a prerrumiantes, muy variables, entre 2,5 y 4 h (ZIV y col., 1986) y entre 4 y 8 h (MEVIUS y col., 1989, 1990) para la flumequina, y de 8 h para la ciprofloxacina (NOUWS y col., 1968).

La eliminación de la norfloxacin en los corderos, es mucho más lenta tras la administración oral que tras la intravenosa ($t_{1/2\gamma} = 13,5$ h) al igual que ocurre en el caso de las ovejas.

La explicación de este hecho en el caso de los corderos puede ser abordada desde dos puntos de vista, en principio, puesto que la administración oral se realizó una semana antes que la intravenosa, es factible la posibilidad de diferencias en la capacidad de metabolización y excreción renal de la norfloxacin entre las dos administraciones. Aún cuando se ha establecido que los mecanismos de filtración glomerular y secreción tubular están desarrollados a las dos semanas en el prerrumiante (DE BACKER, 1985), sin embargo, este tiempo de maduración no es estricto. Por otra parte, el desarrollo de los procesos de biotransformación hepática en el prerrumiante neonato es más lento, estimándose que el total desarrollo se produce entre las 3 y las 5 semanas de vida (DE BACKER, 1985) y demostrándose por otra parte la baja capacidad de los rumiantes en estas edades para los procesos

de biotransformación dependientes del citocromo P450, de la acetilación y de la hidroxilación (NOUWS y col., 1986), así como la dosis-dependencia en cuanto a la eliminación que se produce en este período.

Así, puesto que se ha descrito que la biotransformación de las quinolonas es en gran medida dependiente del citocromo P450 (BARNETT y col., 1990; FUHR y col., 1990), sería explicable que la inmadurez de estos procesos prolongue el tiempo de eliminación de la norfloxacin en los corderos y que por otra parte, la mayor dosis administrada oralmente (30 mg/kg) con respecto a la intravenosa (10 mg/kg), al existir dosi-dependencia en los procesos de eliminación, también pudiera influir en este hecho (NOUWS y col., 1986)

No se puede tampoco descartar la posibilidad de que se produzcan cambios en el pH urinario entre los dos períodos de administración pues se ha descrito la disminución progresiva de $t_{1/2\beta}$ desde el nacimiento a la madurez en los rumiantes para diferentes fármacos a partir de los cambios que se producen en el pH urinario durante el desarrollo (WATSON y col., 1987; NIELSEN y col., 1978). Por tanto la eliminación de la norfloxacin que es pH-dependiente a partir de su reabsorción tubular, podría modificarse con la edad (SÖRGEL y KINZIG, 1993).

Sin embargo, si comparamos la eliminación de norfloxacin en los corderos entre la administración intravenosa y la oral en terminos de aclaramiento plasmático, los valores medios obtenidos son similares (0,35 y 0,41 l/h/kg respectivamente), por lo que la posibilidad de que la prolongación de la eliminación tras la administración oral sea consecuencia de una menor capacidad de los procesos de biotransformación parece adquirir en nuestro caso una mayor importancia, sin embargo, dadas las diferencias interindividuales obtenidas en cuanto al aclaramiento y el probablemente desigual desarrollo de los procesos de maduración seria necesario considerar cada caso individualmente.

En cuanto a las biodisponibilidades obtenidas tras la administración oral de norfloxacin a los corderos, éstas se sitúan en media en un valor de $73,51 \pm 14,55$ %, la cual se puede considerar muy elevada, si bien, se producen ciertas diferencias interindividuales.

La biodisponibilidad oral de norfloxacin en los corderos es más alta que la obtenida para esta quinolona en las especies monogástricas, estableciéndose una absorción del 30-40 % en el hombre (NEUMAN, 1988; ADHAMI y col., 1984), del 57 % en el pollo (ANADON y col., 1992) y de $35,0 \pm 46,1$ % en el perro (BROWN y col., 1990), pero está en el rango de la obtenida para otras fluoroquinolonas en animales prerrumiantes, si bien estas presentan diferencias en cuanto a la dosis administrada y a la forma de administración.

Para la flumequina se han determinado biodisponibilidades entre el 55,7% y el 92,5 % según la dosis administrada (ZIV y col., 1986) y entre el 75,9 % y el 100 % según la forma de administración y la edad de los terneros (MEVIUS y col., 1984, 1990). Mientras que NOUWS y col. (1988), obtienen en terneros de 4 semanas una biodisponibilidad del $53,0 \pm 14$ % para la ciprofloxacina.

Aún cuando la biodisponibilidad encontrada en nuestro trabajo para la norfloxacin en los corderos es alta estimada como media, existen grandes diferencias individuales, y así en los corderos 2 y 5 la biodisponibilidad está en torno al 40 % mientras que, en los tres restantes es superior al 85 %.

La baja biodisponibilidad encontrada en los corderos 2 y 5 se debe a los resultados obtenidos para la administración intravenosa. La obtención de altas AUCt intravenosas en estos individuos es fácilmente justificable a partir de los datos de su aclaramiento plasmático tras la administración intravenosa que en el cordero 2 es de

0,10 y en el 5 de 0,12 l/h/kg, a diferencia de los tres corderos restantes que presentan aclaramientos superiores a 0,42 l/h/kg. Por lo que podríamos pensar en los casos individuales de los corderos 2 y 5 en un menor desarrollo en los procesos de biotransformación y excreción renal en el momento de la administración intravenosa, que daría lugar a los altos valores de AUC_t observados y que incidiría en los bajos porcentajes de biodisponibilidad conseguidos tras la administración oral.

V.1.6.- CONCENTRACIONES RUMINALES DE NORFLOXACINA

Las concentraciones ruminales de norfloxacin obtenidas tras la administraci3n intravenosa e intramuscular prueban la capacidad de esta quinolona de distribuirse en el fluido de los proventr3culos tras su administraci3n parenteral.

La posibilidad de transferencia de los f3rmacos entre el plasma y el contenido de los preest3magos de los rumiantes, est3 ampliamente documentada tanto *in vitro* (JENKINS y DAVIS, 1975), como *in vivo* (JENKINS y col., 1975; DOBSON, 1967) y este paso se puede producir de una forma bidireccional (BOGAN y MARRINER, 1987) ya sea a trav3s del epitelio ret3culo-ruminal, ya a trav3s de la saliva, completando el denominado circuito rumen-sangre-saliva (RASSMUSEN, 1964; DOBSON, 1967; BOGAN y MARRINER, 1987).

Los resultados de concentraci3n ruminal obtenidos, muestran unas grandes diferencias interindividuales, si bien, esta falta de homogeneidad era esperable puesto que existen una serie de factores pr3cticos inherentes a las condiciones de cada animal, que pueden condicionar en gran medida esta transferencia, como hemos rese1ado al hablar de las particularidades farmacocin3ticas de los rumiantes.

En nuestro experimento, la falta de continuidad en la presencia de cantidades detectables de norfloxacin en el contenido ruminal, ser3a explicable por varios factores. En principio la diferente distribuci3n de la norfloxacin en el contenido estratificado de los proventr3culos y por tanto la falta de homogeneidad de las concentraciones, puede haber influido, a3n cuando la toma de las muestras se trataba de realizar lo m3s homog3neamente posible. Por otro lado, el grado de queratinizaci3n de la pared ruminal puede verse afectado por parasitosis previas, tipos de alimentaci3n, edad, etc. y por tanto afectan a la absorci3n; aunque todos estos

factores se trataron de minimizar no pudieron ser totalmente controlados.

En todos los animales, las máximas concentraciones ruminales fueron estimadas entre las 24-50 h post-administración, y este hecho puede tener una doble explicación, ya que por un lado se ha estimado que el tiempo de permanencia del alimento en los preestómagos se puede incrementar hasta en 48 h por la inanición (DOBSON, 1967) como era nuestro caso y también es necesario tener en cuenta que los gradientes de concentración de la forma no ionizada del fármaco entre el rumen y el plasma, no son nunca elevados al estar el fármaco muy diluido en los preestómagos y ser variables las concentraciones adyacentes a la mucosa donde se realiza el intercambio, y por tanto, especialmente para contenidos pobremente mezclados, la consecución del equilibrio es lenta.

En todos los animales estudiados, salvo en el caso de la oveja A, se detectó la presencia en el fluido ruminal de la norfloxacin tras su administración parenteral. En el caso particular de la oveja A, la no presencia en ninguna de las administraciones parenterales de concentraciones detectables nos hizo pensar en alguna alteración en este individuo que justificara este hecho y así, analizando sus datos farmacocinéticos, observamos que tras la administración intravenosa e intramuscular, esta oveja presenta unos parámetros de eliminación plasmática que muestran una eliminación más rápida de la norfloxacin en este individuo que en el resto de los animales estudiados, por lo que pensamos que este hecho pudiera influir en la no presentación de concentraciones ruminales detectables ya que la capacidad absorbente en términos de biodisponibilidad oral no difiere para esta oveja de los demás individuos.

El grado de penetración de la norfloxacin en el contenido ruminal calculado experimentalmente como la razón $AUC_{\text{ruminal}}/AUC_{\text{plasmático}}$ toma tras la administración intravenosa un valor de 0,24 y tras la administración intramuscular 0,39, siendo

estos valores muy superiores a los calculados a partir de la distribución teórica esperable utilizando las ecuaciones de Austin y Jacobs (BAGGOT 1986) que toman un valor de 0,07. Tras la administración oral se obtiene un coeficiente experimental de 402,28 frente a un coeficiente teórico de 9,82.

Estos valores indican que las AUC obtenidas en el contenido ruminal tras la administración parenteral y oral de norfloxacin son mucho mayores que los valores esperables basados en la distribución teórica.

Para explicar este hecho, es necesario tener en cuenta varios factores, pues cada uno de ellos por independiente no tiene la entidad suficiente para justificar las diferencias encontradas. En primer lugar la fracción de norfloxacin ionizada al pH ruminal es mucho mayor que al pH plasmático y por tanto podemos pensar al igual que ATEF y col. (1971) y GARWACKI y col. (1991) en el caso de las sulfamidas, que las altas concentraciones ruminales obtenidas de norfloxacin, van a depender tanto de su paso de sangre a rumen como de una disminución en su reabsorción ruminal pH-dependiente y por tanto de un fenómeno de atrapamiento iónico, confirmándose la importancia del pH ruminal en la distribución de la norfloxacin entre el plasma y el contenido ruminal con el hecho de que a las 50 h de la administración intravenosa, las concentraciones ruminales de norfloxacin eran más altas que las plasmáticas.

En este sentido, WILSON y col. (1984) estudiaron el efecto de las diferentes dietas sobre el paso de la eritromicina hacia el contenido ruminal, determinando que los cambios del pH ruminal según la dieta, podían alterar las concentraciones plasmáticas de eritromicina como resultado de un atrapamiento iónico por cambio en la relación pH/pKa del antibiótico en los proventrículos.

Al igual que ocurre para la norfloxacin en nuestro trabajo, ATEF y col.

(1971) encontraron que las relaciones de concentración rumen/plasma para la sulfadiazina, sulfatiazol y sulfamerazina, obtenidas experimentalmente, eran más altas que los valores teóricos esperables, atribuyendo esos autores las diferencias a la cantidad adicional de sulfamidas que pasan a los proventrículos a través del continuo flujo salivar. Estos autores determinaban grandes cantidades de las sulfamidas en la saliva, mientras que nosotros en nuestro trabajo no realizamos dicha determinación; pero si consideramos que la relación pKa norfloxacin/pH salivar alcalino de los rumiantes es favorable, no podemos desestimar la posibilidad de que parte de la norfloxacin determinada en el rumen no haya llegado allí conducida por la saliva.

Por otro lado es factible la posibilidad de adsorción de la norfloxacin a las partículas del alimento, concretamente a la celulosa, ya que hasta que esta no se degrade, no se libera el fármaco. También ha sido ampliamente establecida la unión de las quinolonas a los cationes bivalentes (STAHLMANN y LODE, 1988; JANKNEGT, 1990) y puesto que el forraje presente en los proventrículos es rico en estos cationes, que la formación de complejos quelantes entre las quinolonas y los cationes bivalentes, pueda dar lugar a la incapacitación de la norfloxacin para ser reabsorbida.

En cuanto a las concentraciones ruminales de norfloxacin tras la administración oral, las concentraciones ruminales máximas se detectan entre los 60 y los 180 min post-administración, hecho razonable puesto que se ha descrito un tiempo de al menos una hora para el total mezclado del contenido de los preestómagos (WILSON y col., 1984).

Las concentraciones ruminales de norfloxacin son homogéneas entre las 2 y las 10 horas post-administración, disminuyendo rapidamente a partir de este momento, por lo que podemos estimar un tiempo de permanencia del fármaco en los

proventrículos entre 10 y 12 h, hecho que coincide con la presentación de las concentraciones plasmáticas máximas que se sitúan tras la administración oral entre las 10 y las 12 h post-administración, y que en general coincide con el tiempo de permanencia en los proventrículos de los fármacos unidos a la fase sólida (FAICHNEY, 1984; DOBSON, 1967).

En todos los animales fueron detectadas altas concentraciones ruminales a las 48 h post-administración, hecho atribuible a la inanición y a la unión del fármaco a los estratos profundos del contenido ruminal. En conjunto, la gran cantidad de fármaco encontrado en los proventrículos, que además a las 48 h alcanza valores superiores a los plasmáticos hace que estos puedan comportarse como un auténtico depósito en el que queda retenido el fármaco, originando una lenta liberación.

La posibilidad de metabolización de la norfloxacin por los microorganismos existentes en el contenido ruminal, ha sido discutida durante este trabajo como una posibilidad, y en general ha sido documentada para numerosos quimioterápicos (SCHELINE, 1973; BOGAN y MARRINER, 1987; SCHMIT y LOSERTH, 1989; JONES, 1981; NIELSEN y col., 1978; KNIFTON, 1982; SOBACK y col., 1987; DE CORTE-BAETEN y DEBACKERE, 1978; FRIIS, 1991a; VYNCKIER y DEBACKERE, 1993), sin embargo, no existe documentación sobre la degradación ruminal de las quinolonas.

Aún cuando no hemos realizado en este trabajo estudios sobre la inactivación de la norfloxacin en el rumen, a la vista de los resultados obtenidos, nos inclinamos a pensar a que si esta se produce es de baja intensidad, puesto que el estudio de la evolución en el tiempo de las concentraciones ruminales tras las distintas administraciones a las ovejas, muestran una gran homogeneidad en el tiempo y no parecen poner de manifiesto la producción de este fenómeno.

V.2.6.- DIFERENCIAS EN LA FARMACOCINETICA DE LA NORFLOXACINA DEPENDIENTES DE LA EDAD

El desarrollo postnatal del aparato digestivo de los rumiantes y los cambios fisiológicos que se producen durante este período, van a condicionar en gran medida la farmacocinética de las moléculas administradas dependiendo del grado de desarrollo adquirido.

Tras la administración intravenosa, ambos grupos de edad presentan un comportamiento claramente tricompartmental si bien comparando los valores de $t_{1/2\alpha}$ y $t_{1/2\beta}$ observamos que la semivida de distribución es más prolognada en los corderos si bien este hecho sería fácilmente explicable a partir de los resultados obtenidos para V_c y V_{ee} que son mucho mayores para los corderos y tambien parece producirse para la danofloxacin que posee una semivida inicial de distribución más prolongada en los terneros prerrumiantes (FRIIS, 1991b) que los rumiantes (GILES y col. 1991).

En cuanto a los parámetros que definen la eliminación, hay un cierto retraso en los corderos tras la administración intravenosa, las semividas de eliminación $t_{1/2\gamma}$ toman valores de 12 h y 13,5 h en las ovejas y los corderos respectivamente, siendo los valores de $T_{1/2K10}$ de 73,05 min y 103 min.

En el mismo sentido, el volumen de distribución tanto para V_c como para V_{ee} es mucho más alto en los corderos (4,52 l/kg frente a 1,05 l/kg en las ovejas) y este hecho unido a que al comparar las constantes de transferencia K_{21} y K_{31} en los dos grupos de edad, estas poseen un valor significativamente más bajo en los corderos ($K_{21} = 132,52$ en ovejas y 70,67 en corderos; $K_{31} = 20,57$ en ovejas y 3,08 en corderos) nos indicaría que la norfloxacin se va a concentrar en los tejidos de los corderos en mayor medida de lo que lo hace en las ovejas.

Por otra parte, el aclaramiento plasmático de la norfloxacin es mucho más elevado en los corderos (0,32 frente a 0,075 l/h/kg) que en las ovejas, si bien, como discutimos en el apartado correspondiente, hay grandes diferencias interindividuales en cuanto al aclaramiento de la norfloxacin.

Estos resultados están en consonancia con los obtenidos por FRIIS (1991b) para la danofloxacin, encontrando este autor que tanto el aclaramiento orgánico total como el volumen de distribución en el estado estacionario es mayor en los terneros prerrumiantes que en los rumiantes estudiados por GILES y col. (1991).

Es lógico pensar, que los aclaramientos en definitiva van a depender en gran medida del grado de desarrollo adquirido en los procesos de biotransformación y excreción del fármaco, si bien, como hemos visto en el caso de los rumiantes, unido a este hecho es necesario considerar el pH urinario en el momento de realizarse el estudio y las relaciones pH/pK_a que se establezcan entre cada molécula y cada momento del desarrollo particular. Este hecho se ejemplifica al comparar los trabajos realizados por MEVIUS y col. (1989-1990) con los de ZIV y col. (1986) para la flumequina. Así, los terneros prerrumiantes con un pH ácido presentaban una $t_{1/2\beta}$ más alta y un aclaramiento significativamente más bajo que el obtenido en terneros rumiantes con un pH básico.

Mientras que en nuestro trabajo, al igual que ocurre para la danofloxacin al comparar los resultados presentados por los diferentes autores (FRIIS y col., 1991 y 1991b; GILES y col., 1991; MANN y FRAME, 1992) el aclaramiento fue significativamente mayor en los corderos, y estas diferencias nos dan una idea de la importancia de considerar el grado de desarrollo de los animales utilizados en el estudio.

En nuestro trabajo, la molécula de norfloxacin va a estar más ionizada al pH

urinario ácido de los corderos de 4 semanas de edad, mientras que como describe DE BACKERE (1985) podemos pensar en un casi completo desarrollo de los procesos de reabsorción tubular descritos para la norfloxacin en otras especies (SÖRGEL y KINZIG, 1993) a esta edad, y estos hechos justificar la menor reabsorción pH dependiente en los corderos y como consecuencia un mucho mayor aclaramiento puesto que al pH urinario alcalino de los rumiantes, la norfloxacin sería facilmente reabsorbible.

Esta pH-dependencia al comparar la eliminaci3n de fármacos según la edad de los rumiantes, ha sido establecida por numerosos autores (WATSON y col., 1978; NIELSEN y col., 1978; SHOAF y col., 1987).

En cuanto a las diferencias farmacocinéticas encontradas para la norfloxacin tras su administraci3n oral a los dos grupos de edad, se ha justificado ampliamente a lo largo de este trabajo la limitaci3n que representa en cuanto a la absorci3n de los fármacos, su tránsito por el contenido de los preest3magos, puesto que hasta las 9 semanas no puede hablarse de metabolizaci3n por los microorganismos ruminales (DE BACKER y DEBACKERE, 1979).

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo muestran las diferencias de biodisponibilidad obtenidas entre los corderos y las ovejas y est3n en consonancia con los descritos para las quinolonas tanto en los rumiantes (MANN y FRAME, 1992; ZIV, 1976; SANTOS, 1992) como en los prerrumiantes (MEVIUS y col., 1989,1990; ZIV y col., 1986; NOUWS y col., 1988) y tambien son analogos a los descritos para otros quimioter3picos administrados oralmente a los rumiantes (SOBACK y col.,1987; NIELSEN y col., 1978; WATSON y col., 1987; SHOAF y col., 1987; BRADLEY y col., VYNCKIER y DEBACKERE, 1993).

En estos trabajos se discute, y en algunos casos se comprueba, la

metabolización de los fármacos por los microorganismos presentes en el contenido ruminal como causa de la disminución en la biodisponibilidad conseguida, mientras que otros autores justifican este hecho por la unión química o inactivación química del fármaco a las partículas del alimento y por tanto a la pérdida de su disponibilidad para la absorción (BRADLEY y col., 1982; RIOND y col., 1989; SOBACK y col., 1987; WILSON y col., 1984).

Al no existir datos sobre la posibilidad de la inactivación-metabolización de las quinolonas en el contenido ruminal, a la vista de los resultados obtenidos en este trabajo en cuanto a la evolución en el tiempo de las concentraciones ruminales tras las distintas administraciones a las ovejas, nos inclinamos a pensar en la inactivación química o en la fuerte unión de la norfloxacin a las partículas del alimento presente en el rumen como causa de la deficiente absorción de esta quinolona en las ovejas.

El grado de ionización de esta molécula en el contenido ruminal es grande y este hecho podría afectar tanto a la posibilidad de unión química a las partículas del alimento como a su absorción a este nivel.

Tras la administración oral la eliminación de la norfloxacin es mas rápida en los corderos que en las ovejas (MRT_t 1466 min frente a 909 min). El prolongado tiempo de eliminación tras la administración oral en las ovejas comparado con el de la administración intravenosa puede ser atribuido a un fenómeno de flip-flop como describen SWEENEY y col. (1984) en el caso de la rifampicina, puesto que el grado de excrección del fármaco estaria condicionado por su lenta absorción debido al efecto de reservorio, probablemente por union a las particulas del alimento, que ejercen sobre el fármaco los proventriculos, mientras que la eliminación de la norfloxacin en los corderos no es significativamente diferente tras la administración intravenosa y oral en términos de MRT_t .

V.2.7.- CONSIDERACIONES TERAPEUTICAS

Aún cuando la explotación extensiva de pequeños rumiantes siga siendo la forma ganadera más generalizada y la explotación intensiva, con su mayor presión patológica, sea una excepción, algunas enfermedades infecciosas provocadas por bacterias y micoplasmas resistentes a los antibióticos comunmente utilizados en la clínica veterinaria pueden dar lugar a pérdidas económicas considerables.

Los resultados obtenidos en los estudios clínicos realizados por los diferentes autores (BAUDITZ, 1992; DUBEY y RAO, 1991; GILES y col., 1991; VANCUTSEM y col., 1990; ESPINASSE y col., 1993; ZIV y col., 1990; SOBACK y col., 1990; LEKEUX, 1988) muestran la efectividad de las diferentes quinolonas sobre los procesos de mayor frecuencia de presentación en los rumiantes.

Los corderos sufren principalmente procesos colibacilares, pasteurelosis, salmonelosis y neumonías micoplasmáticas mientras que las ovejas se enfrentan básicamente a cuadros patológicos de tipo neumónico, agalactia y mastitis infecciosas.

A partir de los datos sobre las CMI de la norfloxacin obtenidas sobre los patógenos de mayor incidencia en los rumiantes (SCHEER, 1987 a,b; GEDEK, 1987; ZIV y col., 1986; WALKER y col., 1989; MEVIUS y col., 1990; HANNAN, 1989; GILES, 1991), el espectro antimicrobiano de la norfloxacin abarcaría a la mayoría de los microorganismos patógenos de los ovidos.

Las concentraciones plasmáticas de norfloxacin a las dosis utilizadas en nuestro estudio estarían por encima de las concentraciones mínimas inhibitorias de los principales patógenos del ovino durante al menos 24 h. tras la administración I.V e I.M. en las ovejas. Las concentraciones plasmáticas tras la administración oral en

las ovejas, aún cuando pueden resultar activas contra *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y en general contra *E. coli*, estaría justo en el límite de efectividad contra *Pseudomonas aeruginosa* y *S. intermedius*.

No es descartable la posibilidad a falta de resultados que lo confirmen que las altas concentraciones esperables en el digestivo tras la administración oral sean efectivas en el tratamiento de procesos digestivos puesto que se ha descrito en el hombre que el 30% de la norfloxacin administrada por vía oral se encuentra en las heces de forma inalterada (FLOREZ, 1992), mientras que para procesos infecciosos generalizados, las altas dosis necesarias para obtener concentraciones plasmáticas terapéuticamente efectivas tras la administración oral a las ovejas, no justificaría el empleo de esta vía al no ser económicamente rentable.

Es por otra parte necesario considerar en este capítulo la importancia que puede tener en los rumiantes la supresión de la microbiota de los proventrículos que se puede producir tras la administración de un agente antimicrobiano (disbiosis microbianas). Puesto que la microbiota de los proventrículos es un ecosistema estable, la severidad de este impacto va a depender del espectro del agente antimicrobiano y de las concentraciones alcanzadas en los contenidos de los proventrículos tras su administración.

En nuestro trabajo las concentraciones ruminales obtenidas tras la administración parenteral en las ovejas aún cuando están dentro de los márgenes de efectividad para los microorganismos aerobios Gram -, no es previsible que tenga acciones importantes sobre la microbiota ruminal puesto que ésta está compuesta fundamentalmente por microorganismos anaerobios (ATEF y col., 1981) y es conocida la pobre actividad de las fluoroquinolonas contra las bacterias anaerobias (WOLFSON y HOOPER, 1985). Incluso las altas concentraciones ruminales detectadas en los proventrículos tras la administración oral no dieron lugar a la

presentación de alteraciones digestivas en los animales estudiados.

VI.- CONCLUSIONES

VI.- CONCLUSIONES

- 1.- Los resultados obtenidos tras la administración intravenosa de norfloxacin (10 mg/kg) en ovejas, se ajusta a un modelo tricompartmental con una $t_{1/2\gamma} = 12,58$ h y un $Cl = 0,75$ l/kg/h, que pone de manifiesto su lenta eliminación y la buena distribución en esta especie.
- 2.- Los resultados obtenidos tras la administración intramuscular de norfloxacin (10 mg/kg) en ovejas, se ajusta a un modelo monocompartmental con grandes variaciones interindividuales en los parámetros que definen la absorción. La biodisponibilidad es de 35,61 %.
- 3.- Los resultados obtenidos tras la administración oral de norfloxacin (60 mg/kg) en ovejas, requieren un análisis no compartmental, con una baja biodisponibilidad (4,04 %), pero que permite obtener concentraciones detectables a las 48 horas post-administración ($MRT_t = 24,43$ h).
- 4.- Los resultados obtenidos tras la administración intravenosa de norfloxacin (10 mg/kg) en corderos, se ajustan a un modelo tricompartmental con una $t_{1/2\gamma} = 13,55$ horas, un $Cl = 0,32$ l/kg/h y un $V_{ee} = 4,52$ l/kg, que indican una eliminación lenta y excelente distribución en este grupo de edad.
- 5.- Los resultados obtenidos tras la administración oral de norfloxacin (30 mg/kg) en corderos, se ajusta a un modelo monocompartmental con grandes variaciones interindividuales, que ponen de manifiesto el diferente grado de desarrollo entre los mismos. La biodisponibilidad obtenida fue del 73,51 %.

6.- La edad influye en el comportamiento farmacocinético de la norfloxacin en los óvulos. El volumen de distribución, el aclaramiento y la biodisponibilidad disminuyen con el desarrollo.

7.- Los niveles de norfloxacin en el contenido ruminal de ovejas, tras su administración por diferentes vías, indican el paso y acumulación de esta quinolona en el complejo rumino-reticular. Los coeficientes de distribución $AUC_{\text{ruminal}}/AUC_{\text{plasmático}}$ experimentales, con valores más elevados que los coeficientes de distribución teóricos esperables, así lo ponen de manifiesto.

8.- La evolución en el tiempo de las concentraciones ruminales de norfloxacin, indican que el complejo rumino-reticular se puede comportar como un auténtico reservorio del fármaco y pondría de manifiesto la escasa metabolización que sufre el mismo por parte de la microbiota.

9.- Las concentraciones plasmáticas obtenidas tras las diferentes administraciones, se mantienen por encima de las MIC de los microorganismos patógenos de mayor frecuencia de presentación en esta especie, durante al menos 24 h tras la administración I.V. en ovejas y corderos e I.M. en las ovejas y durante al menos 48 h tras la administración p.o. en los corderos.

VII.- RESUMEN

VII.- RESUMEN

Se ha estudiado el comportamiento farmacocinético de la norfloxacin tras la administración por vía oral e intravenosa en corderos ($n=5$) de 3 y 4 semanas de edad y por vía intravenosa, intramuscular y oral en ovejas ($n=5$). También se ha estudiado la evolución en el tiempo de las concentraciones de esta fluoroquinolona en el contenido ruminal de las ovejas, así como su distribución rumen/plasma experimental y teórica, para lo cual se procedió a su fistulización quirúrgica. El análisis de las muestras se realizó por cromatografía líquida de alta eficacia mediante modificación de los métodos anteriormente descritos por FORCHETTI, (1984) y MONTAY y col., (1983).

En las ovejas, los resultados de las concentraciones plasmáticas en la administración intravenosa se ajustan a un modelo tricompartmental ($r=0,999$), siendo $t_{1/2\gamma} = 12,58$ h, $Cl=0,75$ l/kg/h y $V_{\infty}=1,05$ l/kg. En la administración intramuscular, los datos de las concentraciones plasmáticas se ajustaron a un modelo bicompartimental con unos resultados de $t_{1/2\alpha} = 10,6$ h, $Vol F = 0,97$ l/kg y $F = 31,61$ %. En la administración oral tras un análisis no compartimental, se obtuvieron unos valores de $MRT_i = 24,43$ h y $F = 4,04$ %. Los resultados obtenidos tras la administración intravenosa en los corderos, se ajustaron a un modelo tricompartmental ($r=0,999$), siendo $t_{1/2\gamma} = 13,5$ h, $Cl = 0,32$ l/kg/h y $V_{\infty} = 0,32$ l/kg/h; mientras que tras la administración oral, se adaptaron a un análisis monocompartimental obteniendo valores de $t_{1/2\alpha} = 22,72$ h y $F = 73,51$ %. Estos resultados indican la lenta eliminación de esta quinolona así como su amplia distribución tisular en los óvidos. El estudio de la evolución en el tiempo de las concentraciones ruminales y de los coeficientes de distribución obtenidos pone de manifiesto la importancia de este compartimento como reservorio del fármaco. Las concentraciones plasmáticas obtenidas tras las diferentes administraciones, se mantienen por encima de las MIC de los microorganismos patógenos de mayor incidencia en esta especie, durante al menos 24h en el caso de I.V. para ovejas y corderos e I.M de los corderos y durante al menos 48 h en p.o. de los corderos.

VIII.- BIBLIOGRAFIA

VII.-BIBLIOGRAFIA.

ADHAMI, Z.N.; WISE, R.; WESTON, D. and CRUMP, B. (1984).- "The pharmacokinetics and tissue penetration of norfloxacin". **J. Antimicrob. Chemother.** 13. 87-92.

ALBRECHT, R. (1977).- "Development of antibacterial agents of the nalidixic acid type". **Prog. Drug Res.** 21. 9-104.

ANADON, A.; MARTINEZ-LARRAÑAGA, M.R.; DIAZ, M.J.; VELEZ, C. and BRINGAS, P. (1990a).- "Pharmacokinetics of pipemidic acid in chickens after single intravenous and oral dosings". **Am. J. Vet. Res.** 51 (11). 1756-1759.

ANADON, A.; MARTINEZ-LARRAÑAGA, M.R.; DIAZ, M.J.; VELEZ, C. and BRINGAS, P. (1990b).- "Pharmacokinetics and residue studies of quinolone compounds and olaquinox in poultry". **Ann. Rech. Vet.** 21. (Suppl 1). 137-144.

ANADON, A.; MARTINEZ-LARRAÑAGA, M.R.; FERNANDEZ, M.C.; DIAZ, M.J. and BRINGAS, P. (1990c).- "Effect of ciprofloxacin on antipyrine pharmacokinetics and metabolism in rats". **Antimicrob. Agents Chemother.** 34 (11). 2148-2151.

ANADON, A.; MARTINEZ-LARRAÑAGA, M.R.; VELEZ, C.; DIAZ, M.J.; C. and BRINGAS, P. (1992).- "Pharmacokinetics of norfloxacin and its N-desethyl and oxo-metabolites in broiler chickens". **Am. J. Vet. Res.** 53 (11). 2084-2089.

ANDRIOLE, V.T. (1988).- "Clinical overview of the newer 4-quinolones antibacterial agents". In: The Quinolones (V.T. Andriole Ed.). Academic Press. London. 155-200.

APPELHAMM, P.C.; SPANGLER, S.K. and SOLLENBERGER, L. (1986).- "Susceptibility of non-fermentative Gram-negative bacteria to ciprofloxacin, norfloxacin, amifloxacin, pefloxacin and cefpirone". **J. Antimicrob. Chemother.** 18. 675-679.

ARCHIMBAULT, P.H. et AMBROGGI, G. (1987).- "L'acide oxolinique chez la volaille: biodisponibilité sérique et pulmonaire, étude de résidues, après administration orale". **Rec. Med. Vet.** 163 (10). 879-883.

ARCIENI, G.; GRIFFITH, E. and GRUENWALDT, G. (1987).- "Ciprofloxacin: an update and clinical experience". **Am. J. Med.** 82 (suppl 4A). 381-386.

ATEF, M.; SALEM, A. and SAMARRAE, A. (1981).- "Ruminal and salivary excretion of some sulphonamides in cows and their effect on rumen flora". **J. Vet. Med. Ass.** 28. 113-121.

AUSTIN, F.H. (1967).- "Absorption, distribution, and excretion of sulfonamides in ruminants". **Federation Proceedings.** 26 (4). 1001-1005.

AUCKENTHALER, R.; MICHEA-HAMZEHPOM, M. and PECHERE, J.C. (1986).- "In vitro activity of newer quinolones against aerobic bacteria". **J. Antimicrob. Chemother.** 17 (Suppl.B). 29-39.

BAGGOT, J.D. (1986).- Principios de Farmacología Clínica Veterinaria. Ed. Acribia. S.A. Zaragoza. España.

BAGGOT, J.D. (1992).- "Bioavailability and bioequivalence of veterinary drug dosage forms, with particular reference to horses: an overview ". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 15. 160-173.

BALL, A.P. and WALLACE, E.T. (1974).- " A ten year study of the sensitivities of urinary pathogens in a pyelonephritis unit". **J. Inst. Med. Res.** 2 (Suppl). 18-22.

BEMBROOK, D.M. and MILLER, R.V. (1986).- " Effects of norfloxacin on DNA metabolism in *Pseudomonas aeruginosa* ". **Antimicrob. Agents Chemother.** 29. 1-6.

BARLOW, A.M. (1963).- " Nalidixic acid in infections of urinary tract". **Br. Med. J.** 2. 1308-1310.

BARNETT, G.; SEGURA, J.; DE LA TORRE, R. and CARBO, M. (1990).- " Pharmacokinetics determination of relative potency of quinolone inhibition of caffeine disposition". **Eur. J. Clin. Pharmacol.** 39 (1). 63-69.

BARRE, J.; HOVIN, G. and TILLEMENT, J.P. (1984).- "Dose-dependant pharmacokinetic study of pefloxacin a new antibacterial agent in humans". **J. Pharm. Sci.** 73 (10). 1379-1382.

BARRY, A.L. (1989). " *In vitro* activities of the quinolone antimicrobial agents ". In: Quinolones. P.B. FERNANDES (Ed.). J.R. Proust Science Publishers. Barcelona. pp.237-254.

BARRY, A.L. and JONES, R.N. (1984).- "Cross-resistance among cinoxacin, ciprofloxacin, DJ-6783, enoxacin, nalidixic acid, norfloxacin and oxolinic acid after *in vitro* selection of resistant populations". **Antimicrob. Agents Chemother.** 25. 775-777.

BARRY, A.L. and JONES, R.N. (1987).- "*In vitro* activity of ciprofloxacin against Gram-positive cocci". **Am. J. Med.** 82. 27-32.

BAUDITZ, R. (1987).- "Results of clinical studies with Baytril in dogs and cats". **Vet. Med. Rev.** 2. 137-140.

BAUDITZ, R. (1992).- "Resultados obtenidos en la comprobación clínica con Baytril en terneros y cerdos". **Veterinaria en Praxis.** 7 (1). 11-18.

BERG, R. (1978).- Anatomía Topográfica y Aplicada de los Animales Domésticos". Editorial A.C. Madrid. 177-214.

BERGAN, T. (1988a).- "Pharmacokinetic of quinolones: an review". **Rev. Infect. Dis.** 10 (Suppl 1). 90-91.

BERGAN, T. (1988b).- "Pharmacokinetics of fluorinated quinolones". In: The Quinolones. Ed. V.T. Andriole. Academic Press. London. pp. 119-154.

BERGAN, T. (1989).- "Pharmacokinetics of ciprofloxacin with reference to other fluorinated quinolones". **J. Chemother.** 1(1). 10-17.

BERGERON, M.G.; THABET, M.; ROY, R.; LESSARD, C. and FONCAULT, D. (1985).- "Norfloxacin penetration into human renal and prostatic tissues". **Antimicrob. Agents Chemother.** 28. 349-350.

BLUM, R.A. (1992).- "Influence of renal function on the pharmacokinetics of lomefloxacin compound with other fluoroquinolones". **Am. J. Med.** 92 (4A). 18-21.

BOECKH, M.; LODE, H.; DEPPERMAN, K.M.; GUINEISEN, S.; SHOKRY, F.; HELD, R.; WERNICKE, K.; KOEPPE, P.; WAGNER, J. and KRASEMANN, C. (1990).- "Pharmacokinetics and serum bactericidal activities of quinolones in combination with clindamycin, metronidazole and ornidazole". **Antimicrob. Agents Chemother.** 34 (12).2407-2414.

BOGAN, J.A. and MARRINER, S.E. (1987).- "The rumen as a pharmacokinetic compartment". In: OOMS, L.A.A.; DECRYSE, A.D. and VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. *Physiological and Pharmacological Aspects of the Reticulo-rumen*. Martinus Nijhoff Publishers. 253-270.

BONAFONTE, J.I.; SANCHEZ-VALVERDE, M.A.; SAN ROMAN, F. y MARTIN, E. (1985).- "Método para la colocación, en un solo tiempo quirúrgico, de cánulas ruminales en el ganado ovino". *Zootecnia XXXIV*. 64-69.

BOOTH, N. and McDONALD, L. (1982).- In: Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 5th. ed. Iowa University Press. Arnes. Iowa.

BOSCH, J.; LINARES, J.; LOPEZ DE GOICOECHEA, M.J.; ARIZA, J.; CISNAL, M.C. and MARTIN, R. (1986).- "*In vitro* activity of ciprofloxacin, ceftriaxone and fine other antimicrobial agents against 95 strains of *Brucella melitensis*". *J. Antimicrob. Chemother.* 17. 459-461.

BOUSER, P.R.; WOOSTER, G.A.; LEGER, J.S. and BABISH, J.G. (1992).- "Pharmacokinetics of enrofloxacin in fingerling rainbow trout". *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 15. 62-71.

BRADLEY, B.D.; ALLEN, E.H.; SHOWALTER, B.H. and COLAIANNE, J.J. (1982).- "Comparative pharmacokinetics of chlortetracycline in milk-fed versus conventionally fed calves". *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 5. 267-278.

BRAUNIS, W.W. (1987).- "Effect van BaytrilTM (Bay Vp 2674) op jonge kalkoenen lijdende aan luchstweginfecties". *Tijdschr Diergeneeskd.* 112. 531-533.

BROGARD, J.M.; PARIS-BOCKEL, D.; JEHL, F.; BLICKLE, J.F. and MONTEIL, H. (1987).- "Anciennes (et surtout) nouvelles quinolones. 1re partie: des

modifications structurales à l'origine d'un deuxième souffle". **J. Méd. Strasbourg.** 18(9). 503-509.

BROWN, S.A.; COOPER, J.; GAURE, J.J.; GRECO, D.S.; WEIRE, D.W. and BUCK, J.M. (1990).- "Pharmacokinetics of norfloxacin in dogs after single intravenous and single and multiple oral administrations of the drug". **Am. J. Vet. Res.** 51 (7). 1065-1070.

BUCHBINDER, M.; WEBLE, J.C.; ANDERSON, L.V. and McCOHE, W.R. (1963).- "Laboratory studies and clinical pharmacology of nalidixic acid". Antimicrob. Agents Chemother. 1962. 308-317.

BULGIN, M.S.; LANE, V.M.; ARCHER, T.E.; BAGGOT, J.D. and CRAIGMILL, A.L. (1991).- "Pharmacokinetics, safety and tissue residues of sustained release sulfamethazine in sheep". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 14. 36-45.

BURKHARDT, J.E.; HILL, M.A.; CARLTON, W.W. and KERSTERSON, J.W. (1990).- "Histologic and histochemical changes in articular cartilages of immature beagle dogs dosed with difloxacin, a fluoroquinolone". **Vet. Pathol.** 27. 162-170.

BURROWS, G.E.; TYLER, R.D.; CRAIGMILL, A.L. and BARTE, P.B. (1984).- "Chloramphenicol and the neonatal calf". **Am. J. Vet. Res.** 45(8). 1586-1591.

CARLIER, M.B.; SCORVEAUX, B.; JENEBERGH, A. and TULKENS, P.M. (1987).- "Uptake and subcellular distribution of 4-quinolones in phagocytes". 27th Int. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. New York. Abstrat.

CHALKLY, L.J. and KOORNHOF, H.J. (1985).- "Antimicrobial activity of ciprofloxacin agonist *Pseudomona aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus*

aureus determined by the killing curve method: antibiotic comparisons and synergistic interactions". **Antimicrob. Agents Chemother.** 28. 331-342.

CHEVALIER, R.; GERARD, J.P. and MICHEL, C. (1981) .-"Distribution et cinétique tissulaire de la flumequine chez la truite arc-en-ciel". **Rev. Med. Vet.** 132 (12). 831-837.

CHIN, N.X. and NEU, H.C. (1987).- "Post-antibiotic a suppressive effect of ciprofloxacin against Gram positive and Gram negative bacteria". **Am. J. Med.** 82 (Suppl 4A). 58-62.

CHOW, A.W.; WONG, J.; BARTLETT, K.H.; SHAFRAND, S.D. and STIVER, H.G. (1989).- "Cross-resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to ciprofloxacin extended-spectrum β -lactams, and aminoglycosides and susceptibility to antibiotic combinations". **Antimicrob. Agents Chemother.** 33. 1368-1372.

CHU, D.T.W.; FERNANDES, P.B.; CLAIBORNE, A.K.; SHEN, L. and PERNET, A. (1987).- "New structure activity relationship of quinolone antibacterials: The nature of the 3-carboxylic acid group". 27th. Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. (New York). Abst. 253.

CHU, D.T.W.; FERNANDES, P.B; CLAIBORNE, A.K; SHEN, L. and PERNET, A. (1988).- "Structure-activity relationships in quinolone antimicrobials: design, synthesis, and biological activities of novel isothiazoquinolones". **Drugs. Exp. Clin. Res.** 14. 379-383.

COMLINE, R.S. y TITCHEN, D.A. (1962).- "Control nervioso del estómago del rumiante". En: LEWIS, D. Fisiología Digestiva y Nutrición de los Rumiantes. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza.

- CONZELMAN, G.M.; BABISH, J.G.; DAVIDSON, J.N.; McMILLAN, R.A. and COPELAND, D.D. (1987).- "Pharmacology and kinetics of (Bay Vp2674) in chickens. In: **Proc. West. Pharmacol. Soc. Hawaii**. Lomax P, Dept. Pharmacology. UCLA. School of Medicine. Los Angeles. California. 30. 393-395.
- COOKE, R.G. and NICHOLSON, T. (1981).- "The reticular groove and drug absorption". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 4. 311-313.
- CORRADO, M.L.; STRUBLE, W.E.; CHENNEKATU, P. HOAGLAND, V. and SABBAJ, J. (1987).- "Norfloxacin: review of safety studies". **Am. J. Med.** 82 (Suppl 6). 22-26.
- CORBION, B. et GLEDEL, J. (1981).- "Antibioresistance de 13000 souches de *Salmonella* d'origine "non-humaine" (1978 á 1980)". **Rec. Med. Vet.** 157(11). 797-808.
- CRIDER, S.R.; COLBY, S.D. and MILLER, L.K. (1984).- " Treatment of penicillin resistant *Neisseria gonorrhoeae* with oral norfloxacin". **N. Engl. J. Med.** 311. 137-140.
- CRUMPLIN, G.C. (1987).- "Plasmid mediated resistance to nalidixic acid and new 4-quinolones ?". **Lancet.** 2. 854-855.
- CRUMPLIN, G.C. and SMITH, J.T. (1975).- "Nalidixic acid an antibacterial paradox". **Antimicrob. Agents Chemother.** 8. 251-261.
- CRUMPLIN, G.C. and SMITH, J.T. (1976).- "Nalidixic acid and bacterial chromosome replication". **Nature** (London). 260. 643-645.
- DALHOFF, A. and EICKENBERG, H.V. (1985).- "Tissue distribution of

ciprofloxacin following oral and intravenous administration". **Infection**. 13. 78-81.

DALHOFF, A. (1989).- "A review of quinolone tissue pharmacokinetics". In: International Telesymposium on Quinolones. Ed. J.R. Prous Science Publishers. Barcelona. Spain. 277-312.

DANIES, B.I.; MAESEN, F.P.V.; TEENGs, J.P. and BANS, C. (1986).- "The quinolones in chronic bronchitis". **Pharm. Weekbl. Sci. Ed.** 8. 53-59.

DAVIES, S.; SPARHAM, P.D. and SPENCER, R.C. (1987).- "Comparative *in vitro* activity of fine fluoroquinolones against mycobacteria". **J. Antimicrob. Chemother.** 19. 605-609.

DE BACKER, P. (1985).- "Comparative neonatal pharmacokinetics". In: Comparative Veterinary Pharmacology, Toxicology and Therapy. Edited by: VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; BOGAERT, M.G. and DEBACKERE, M. MTP Press Limited. Lancaster. England.

DE BACKER, P.; DEBACKERE, M. and DE CORTE-BAETEN, K. (1978).- "Plasma levels of chloramphenicol after oral administration in calves during the first weeks of life". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 30(1). 135-140.

DE BACKER, P. and DEBACKERE, M. (1979).- "Comparative study of chloramphenicol absorption in calves after oral intra-ruminal and intra-abomasal administration". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 2. 195-202.

DE BACKER, P. and BOGAERT, M.G. (1982).- "Drug bioavailability in the developing ruminant". In: RUCKEBUSCH, Y.; TOUTAIN, P.L. and KORITZ, G.D. Veterinary Pharmacology and Toxicology. MTP Press Limited. Lancaster.

DECOLIN, D. and NICOLAS, A. (1987).- Determination of flumequine and its 7-hydroxy metabolite by reversed-phase high-performance liquid chromatography". **J. Chromatogr.** 414, 499-503.

DE CORTE-BAETEN, K. and DEBACKERE, M. (1978).- "The non-absorption of chloramphenicol after administration in adult ruminants: a tentative explanation from *in vitro* studies". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 1, 129-134.

DEITZ, W.H.; COOK, T.M. and GROSS, W.A. (1966).- "Mechanism of action of nalidixic acid on *Escherichia coli* III condition required for lethality". **J. Bacteriol.** 91, 768-773.

DOBSON, A. (1967).- "Physiological peculiarities of the ruminant relevant to drug distribution". Symposium on comparative pharmacology. Federation Proceedings. 26, 994-1000.

DORRESTEIN, G.M. (1992).- "Enrofloxacin in pet avian and exotic animal therapy". Proceedings First International Baytril Symposium (Bonn). 63-72.

DORRESTEIN, G.M.; VAN GOGH, H.; BUIEALAAR, M.N. and NEWS, J.F.M. (1983).- "Clinical pharmacology and pharmacokinetics of flumequine after intravenous, intramuscular and oral administration in pigeons". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 6, 281-292.

DRAPEAU, G.R.; GARIEPY, F. and BOULE, M. (1984).- "Regulation and SOS induction of division inhibition in *Escherichia coli* K-12". **Mol. Gen. Genet.** 193, 453-458.

DUBEY, G.K. and RAO, K.N.P. (1991).- "Some observations on the therapeutic applicability of norfloxacin in enteric colibacillosis". **Indian Vet. J.** 68, 761-764.

DUDLEY, M.N.; ERICSON, J. and ZINNER, S.W. (1987).- "Effect of dose on serum pharmacokinetics of intravenous ciprofloxacin with identification and characterization of extramuscular compartments using noncompartmental and compartmental pharmacokinetic models". **Antimicrob. Agents Chemother.** 11. 1782-1786.

EANDI, M.; VIANO, I.; DINOLA, F.; LEONE, L. and GENAZZANI, E. (1983).- "Pharmacokinetics of norfloxacin in healthy volunteers and patients with renal and hepatic damage". **Eur. J. Clin. Microbiol.** 2. 253-259.

ENG, R.H.K.; SMITH, S.M.; CONADO, M.L. and GADEBUSCH, H.H. (1982).- "Antifungal activity of norfloxacin (MK 0366) and amphotericin-B in combination". 22nd. Intersciences Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Miami Beach. Oct. 4-6. Abstract n° 479.

ENGLE, E.C.; MANES, S.A. and DRLICA, K. (1982).- "Differential effects of antibiotics inhibitory gyrase". **J. Bacteriol.** 149. 92-98.

ERICSSON, C.D., JOHNSON, P.C., DUPONT, H.L., MORGAN, D.R., BITSURA, J.A.M., De La CABADA, F.J. (1987).- " Ciprofloxacin or trimethoprim-sulfamethoxazole as initial therapy for travellers diarrhea" **Ann. Int. Med.** 106. 216-220.

ERON, L.J. (1987).- "Therapy of skin and skin structure infection with ciprofloxacin". **Am. J. Med.** 82. 224-226

ESPINASSE, J.; COLLAS, R.; VISO, M.; TIGEOT, P.; CANTEGREL, O.; DELVAUX, G.; PETIT, P.H.; LELAYEC, C.; HERRY, A. et LAMBERT, P.H. (1983).- "Mise au point d'un modèle expérimentale de colibacillose néonatale chez le veau: application à l'étude de l'activité clinique de la fluméquine". **Rec. Med.**

Vet. 159(1). 33-39.

FAICHNEY, G.J. (1984).- "The kinetics of particulate matter in the rumen". In: Control of Digestion and Metabolism in ruminants. MILLIGAN, L.P.; GROVUN, W.L.; DOBSON, A. Englewood. Cliffs (New Jersey). 173-195.

FELMINGHAM, D.; O'HARA, M.D.; ROBLINS, M.I.; WALL, R.A.; WILLIAMS, A.H.; CREMER, A.W.; RIDGWAY, G.L. and GRUNEBERG, R.N. (1985).- "Comparative *in vitro* studies with 4-quinolone antimicrobials". **Drugs. Exp. Clin. Res.** 11. 317-329.

FERNANDES, P.B. (1988).- "Mode de action, and *in vitro* and *in vivo* activities of the fluoroquinolones". **J. Clin. Pharmacol.** 28. 156-168.

FERNANDES, P.B.; SHIPKOWITZ, N.; BOWER, R.R.; JANNIS, K.P.; WEISZ, J. and CHU, D.T.W. (1986).- "*In vitro* and *in vivo* potency of five new fluoroquinolones against anaerobic bacteria". **J. Antimicrob. Chemother.** 18. 693-701.

FILLASTRE, J.P.; LEROY, A.; MOULIN, B.; DHIB, M.; BORSA-LEBAS, F. and HUMBERT, G. (1990).- "Pharmacokinetics of quinolones in renal insufficiency". **J. Antimicrob. Chemother.** 26. Suppl 13 P. 51-60.

FLAMMER, K. (1992).- "Clinical use and pharmacokinetics of Baytril in caged birds". Proceedings of the First International Baytril Symposium. Bonn. 59-61.

FLAMMER, K.; AUCOIN, D.P. and WHITT, D.A. (1991).- "Intramuscular and oral disposition of enrofloxacin in african grey parrots following single and multiple doses". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 14. 359-366.

- FONG, I.W., LINTON, W. SIMBUL, M. (1987).- "Treatment of non-gonococcal urethritis with ciprofloxacin". **Am. J. Med.** 82 (Suppl. 4A). 311-316.
- FORCHETTI, C. (1984).- "High-performance liquid chromatography procedure for the quantitation of norfloxacin in urine, serum and tissues". **J. Chromatogr.** 309, 177-182.
- FRIIS, C. (1991a).- "Disposition kinetics of metronidazole in the cow". **Acta Vet. Scand.** 87.(Suppl.). 155-157.
- FRIIS, C. (1991b).- "Danofloxacin in calves: pharmacokinetics and penetration into the respiratory tract tissue". **Acta Vet. Scand.** 87 (Suppl). 104-106.
- FROYMAN, R. (1992).- Enrofloxacin (Baytril®) Pharmacodynamia and pharmacokinetic properties". Proceedings of the first international Baytril Symposium, 11-14.
- FUHR, V.; WOLFF, T.; HARDER, S.; SCHYMANSKI, P. and STAIB, A.H. (1990).- "Quinolone inhibition of cytochrome p-450-dependent caffeine metabolism in human lines microsomes". **Drug. Metab. Dispos.** 18(6). 1005-1010.
- FUURSTED, K. (1987a).- "Post-antibiotic effect of ciprofloxacin on *Pseudomona aeruginosa*". **Eur. J. Clin. Microbiol.** 6. 271-274.
- FUURSTED, K. (1987b).- "Post-antibiotic effect and killing activity of ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus*". **Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. B Microbiol.** 95. 199-202.
- GARWACKI, S.; HORNIK, H.; KARLIK, W. and DALNOSVSKI, J. (1991).-

"Pharmacokinetics of sulfamerazina in sheeps feed *ad libitum* and fasted". **Acta Vet. Scand.** 87 (Suppl). 145-146.

GEDEK, W. (1987).- "Antibakterielle wirkung von veneren chinolonen und nalidixinsäure gegenüber mastritisenegern von reind". **Dtsch. Tierärzti. Wschr.** 94. 545-548.

GELLERT, M. (1981).- "DNA topoisomerases". **Annu. Rev. Biochem.** 50. 879-910.

GELLERT, M.; MIZUUCHI, K.; O'DEA, M.H.; ITOH, T. and TOMIZAMA, J. (1976).- "Nalidixic acid resistance: a second character involved in DNA gyrase activity". **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 74. 4772-4776.

GILES, C.J.; MAGORIGLE, R.A.; GRIMSHAW, W.R.T.; TANNER, A.C.; RISK, J.E.; LYNCH, M.J. and RICE, J.R. (1991).- "Clinical pharmacokinetics of parenterally administrered danofloxacin in cattle". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 14. 400-410.

GOLDSTEIN, E.J.C. (1987).- "Norfloxacin, a fluoroquinolone antibacterial agent". **Am. J. Med.** 82 (Suppl 6 B). 3-17.

GROHE, K. and HEITZER, H. (1987).- " Cycloaracylation of evanines. 1. Synthesis of 4-quinolone-3-carboxylic acids". **Liebigs. Ann. Chem.** 29-38.

GUARD, C.L.; SCHWARK, W.S.; FRIEDMAN, D.S.; BLACKSHEAR, P. and HALUSKA, M. (1986).- "Age-related alterations in trimethoprim a sulfadiazine disposition following oral or parenteral administration in calves". **Can. J. Vet. Res.** 50. 342-346.

GUDAS, L.J. and PARDEE, A.B.(1976).- "DNA synthesis inhibition and the induction of protein X in *Escherichia coli*". **J. Mol. Biol.** 101. 459-477.

GUDAS, L.J. and MILLER, R.V. (1986).- "Effects of norfloxacin on DNA metabolism in *Pseudomona aeruginosa*". **Antimicrob. Agents Chemother.** 29. 1-6.

HAEFELFINGER, P. (1981).- "Limits of the internal standard technique in chromatography". **J. Chromatogr.** 218. 73-81.

HALLER, I. (1985).- "Comprehensive evaluation of ciprofloxacin aminoglycoside combinations against *Enterobacteriaceae* and *Pseudomona aeruginosa*. **Antimicrob. Agents Chemother.** 28. 663-666.

HANNAN, P.C.T.; O'HANLON, P.J. and ROGERS, N.H. (1989).- "*In vitro* evaluation of various antibacterial agents against veterinary mycoplasmas and porcine respiratory bacterial pathogens". **Res. Vet. Sci.** 46. 202-211.

HANNAN, P.C.T. (1990).- " Treatment of experimental enzootic pneumonia of the pig by norfloxacin or its 6-chloro analogue". **Res. Vet. Sci.** 49. 203-210.

HASEGAWA, T.; NADAI, M.; KUZUYA, T.; MUNAOKA, I.; APICHARTPICHEAN, R.; TAKAGI, K. and MIYAMOTO, K. (1990).- "The possible mechanism of interaction between xantines and quinolone". **J. Pharm. Pharmacol.** 42 (11). 767-772.

HAYASAKI, M.; KONDOH, H.; ITOH, K. and NODA, K. (1984).- "Fundamental and clinical studies of DL 8280 in obstetrical and gynecological field". **Chemotherapy.** 32 (Suppl 1). 934-943.

HENWOOD, J.M. and MONK, J.P.(1988).- "Enoxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use". **Drugs**. 36. 32-66.

HIGGINS, N.P.; PEEBLES, C.L.; SUGINO, A. and COZZARELLI, N.R. (1978).- "Purification of subunits of *Escherichia coli* DNA gyrase and reconstitution of enzymic activity". **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 75. 1773-1777.

HINTON, M. and LINTON, A.H. (1985).- "The influence of flumequine on the resistance of the coliform flora of chickens to the agent". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 8. 393-397.

HIRAI, K. (1989).- " Quinolone-resistance mechanisms involved in auter membrane". In: International Telesymposium on Quinolones. Ed. J.R. Prous Science Publishers. Barcelona. Spain. 187-201.

HIRAI, K.; AOYAMA, H.; IRIKURA, T.; IYOHE, S. and MITSUHASHI, S. (1986a).- "Differences in susceptibility to quinolones of auter membrane mutants of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* k-12. **Antimicrob. Agents Chemother.** 29. 535-538.

HIRAI, K.; ISHIZAKI, T.; KOIKE, T.; IWASE, K.; HOSAKA, M.; NIWATA, Y.; ASAHINA, Y.; SUZUE, S. and MARUSAWA, K. (1986b).- "Isolation and characterization of norfloxacin resistant mutants of *Escherichia coli* K-12". **Antimicrob. Agents Chemother.** 30. 248-253.

HÖFFKEN, G.; LODE, H.; WILEY, R.; GLATZEL, T.A.; SIEVERS, D.; OLSCHESKI, T.; BORNER, K. and KOEPE, P. (1986).- " Pharmacokinetics and interactions in the bioavailability of the new quinolones". International Symposium on New Quinolones. Geneva. Abst.141.

HOLMES, B.; BROGDEN, R.N. and RICHARDS, D.M. (1985).- "Norfloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetics properties and therapeutic use". **Drugs**. 30. 482-513.

HOOPER, D.C. and WOLFSON, J.S. (1985).- "The fluoroquinolones: pharmacology, clinical use and toxicities in humans". **Antimicrob. Agents Chemother.** 28. 716-721.

HOOPER, D.C.; WOLFSON, J.S. and SWARTZ, E.M.N. (1987).- "Mechanisms of action of and resistance to ciprofloxacin". **Am. J. Med.** 82 (Suppl.4A). 12-20.

HUGHES, P.H.; WEBB, D.B. and ANCHER, A.W. (1984).- "Pharmacokinetics of norfloxacin (MK 366) in patients with failure kidney function a some preliminary results". **J. Antimicrob. Chemother.** 13 (Suppl 13). 55-57.

INGERMAY, M.J.; PITRAKIS, P.G.; ROSEMBERG, A.F. and LENISON, M.E. (1986).- "The importance of pharmacodynamics in determining the dosing interval in therapy for experimental pseudomonas endocarditis in the rat". **J. Infect. Dis.** 153 (4). 707-714.

INGHAM, B.; BRENTUALL, D.W.; DALE, E.A. and McFADREAN, J.A. (1977).- "Arthropaty induced by antibacterial fused N-alkyl-4-pyridone-3-carboxilic acids". **Toxicol. Lett.** 1. 21-26.

INONE, I.; SATO, K.; FUJII, T.; HERAI, K.; INONE, M.; IYONE, S. and MITSUBASHI, S. (1987).- "Some properties of subunits of DNA gyrase from *Pseudomona aeruginosa* PAO1 and its nalidixic acid-resistant". **J. Bacteriol.** 169. 2322-2325.

ISAZA, R.; BUDSBERG, S.C.; SUNDLOF, S.F. and BAKER, B. (1993).-

"Disposition of ciprofloxacin in red-tailed hawks following a single oral dose". **J. Zoo Wildl. Med.** 24 (4). 498-502.

ITO, A.; HIRAI, K. and INONE, M. (1980).- "In vitro activity of AM-715 a new nalidixic acid analog". **Antimicrob. Agents Chemother.** 17. 103-108.

IWASAWA, T. (1981).- "Fundamental and clinical studies on AM- 715 in the otorhinolaryngological field". **Chemotherapy (Japan)**. 29 (Suppl 4). 715-729.

JAIN, S.K. and UPPAL, R.P. (1984).- "Data and the pharmacokinetics of sulphametoxazole and trimethoprim in buffalo calves". **Zentralbl. Veterinaarmed. Reihe A**. 31. 25-30.

JANIN, N.; MENQUIER, H.; DESNOTTES, J.F.; WOEHRLE, R. and FLEURETTE, J. (1987).- "Recovery of pefloxacin in saliva and feces and its action on oral and fecal floras in healthy volunteers". **Antimicrob. Agents Chemother.** 31(11). 1665-1668.

JANKNEGHT, R. (1990).- "Drug interactions with quinolones". **J. Antimicrob. Chemother.** 26 (suppl DP). 7-29.

JARRET, I.G. (1948).- "The production of rumen and abomasal fistulae in sheep". **J. Council Sci. Ind. Res. Australia**. 21. 311-316.

JENKINS, W.L. (1969).- "Studies on the effects of the intraruminal administration of sulphadimidine a adults sheeps". **J. S. Afr. Vet. Med. Assoc.** 40 (2). 159-178.

JENKINS, W.L. and DAVIS, L.E. (1975a).- "A method for the study *in vitro* of drug transfer across ruminal epithelium". **J. S. Afr. Vet. Assoc.** 46 (2). 153-160.

JENKINS, W.L.; DAVIS, L.E. and BOULOS, B.M. (1975b).- "Transfer of drugs across the ruminal wall in goats". **Am. J. Vet. Res.** 36 (12). 1771-1776.

JHONSON, J.A. and BENZIGER, D.P. (1985).- " Metabolism and disposition of amifloxacin in laboratory animals". **Antimicrob. Agents Chemother.** 27. 774-781.

JONES, R.J. (1981).- "Does ruminal metabolism of mimosine explain the absence of *Leucaena* toxicity in Hawaii". **Aust. Vet. J.** 57. 55-56.

JORDAN, F.T.W.; HORROCKS, B.K. and FROYMAN, R. (1993a).- "A model for testing the efficacy of enrofloxacin administered to turkey itens in the control of *Mycoplasma iowae* infection in eggs and embryos". **Avian Dis.** 37. 1057-1061.

JORDAN, F.T.W.; HORROCKS, B.K.; JONES, S.A.; COOPER, A.C. and GILES, C.J. (1993b).- "A comparison of the efficacy of danofloxacin and tylosin in the control of *Mycoplasma gallisepticum* in broiler chicks". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 16. 79-86.

KELLER, H. (1991).- "Comparison of the adverse effect profile of differents substances such as penicillins, tetracyclines, sulfonamides and quinolones". **Infection.** 19(suppl 1P). 19-24.

KITZES-COHEN, R. (1989).- "CNS-pharmacokinetics of quinolones. Quinolones in CNS infections". In: International Telesymposium on Quinolones. Ed. J.R. Prous Science Publisher. Barcelona. Spain. 313-326.

KLAPMAN, G.; MACINA, D.T.; LEVINNON, M.E. and ROSENKRANZ, H.S. (1987).- "Computer automated structure evaluation of quinolone antibacterial agents". **Antimicrob. Agents Chemother.** 31. 1831-1839.

KLINGE, E.; MÄNNISTÖ, P.T. and MÄNTYLÄ, R. (1978).- "Single and multiple dose pharmacokinetics of pipemidic acid in normal human volunteers". **Antimicrob. Agents Chemother.** 26. 69-73.

KNIFTON, A. (1982).- " Pharmacokinetics of antibacterials in calves". **Vet. Rec.** 111. 49-52.

KNOPPERT, N.W.; NIJMEIJER, S.M.; VAN DUIN, C.T.M.; KORSTANJE, C.; VAN GOGH, H.; VAN MIERT, A.S.J.P. (1988).- " Some pharmacokinetic data of aditoprim and trimethoprim in healthy and tick-bone fever infected dwarf goats". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 11. 135-144.

KOMAREK, R.J. (1981).- "Rumen and abomasal cannulation of sheep with specially designed cannulas and a cannula insertion instrument". **J. An. Sci.** 53 (3). 790-795.

KORITZ, G.D.; BOURNE, D.W.A.; DITTERT, L.V. and BENILL, R.F. (1978).- "Disposition of sulfonamides in food producing animals: pharmacokinetics of sulfamerazine in cattle". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 1. 285-292.

KORITZ, G.D. (1983).- Influence of ruminant gastrointestinal physiology on the pharmacokinetics of drugs in dosage forms administered orally. In: Veterinary Pharmacology and Toxicology. RUCKEBUSCH, Y.;TOUTAIN, P.L. and KORITZ, G.D. MTP Press Limited. (Lancaster).

KÜNG, K.; RIOND, J.L. and WANNER, M. (1993).- " Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and oral administration of enrofloxacin in dogs". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 16. 462-468.

KUNIN, C.M. and FINLAND, M. (1961).- "Clinical pharmacology of the tetracycline antibiotics". **Clin. Pharmacol. Therap.** 2. 51-69.

KUSAJIMA, H.; ISHIKAWA, N.; MACHIDA, M.; UCHIDA, H. and IRIKURA, T. (1986).- " Pharmacokinetics of a new quinolone AM-833 in mice, rats, rabbits, dogs and monkeys". **Antimicrob. Agents Chemother.** 30 (2). 304-309.

LAMELAND, J.F.; ROGUEZ, J.PH. and HESMBERT, G. (1981).- "Les nouvelles quinolones". **Rev. Med. Therap.** 3. 121-126.

LANUSSE, C.E.; GACON, L.H. and PRICHARD, R.K. (1993).- "Gastrointestinal distribution of albendazole metabolites following netobimin administration to cattle: relationship with plasma disposition kinetics". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 16. 38-47.

LEHNINGER, A. (1979).- Bioquímica. Ed. Omega. S.A. Barcelona.

LEKEUX, P. (1988),. "Effect of enrofloxacin therapy on shipping fever pneumonia in feed lot cattle". **Vet. Rec.** 123. 205-207.

LESHER, G.Y.; FROELICH, E.J.; GRUET, M.D.; BAILY, J.M. and BRUNDAGE, R.P. (1962).- "1,8-Naphthyridine derivates. A new class of chemotherapeutic agents". **J. Med. Pharm. Chem.** 5. 1063-1068.

LLOVERIA, P.R. (1992).- Estudio farmacocinético de las curvas de nivel plasmático elaboradas tras la administración de una dosis única por vía endovenosa de ciprofloxacina en oveja. Memoria de Grado de Licenciatura. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.

LOCKLEY, M.R.; WISE, R. and DENT, J. (1984).- "The pharmacokinetics and tissue penetration of ofloxacin". **J. Antimicrob. Chemother.** 14. 647-652.

LODE, H. (1988).- "Drug interactions with quinolones". **Rev. Infect. Dis.** 10 (Suppl.1). 132-136.

MACHIDA, M.; KUSAJIMA, H.; AIJIMA, H.; MAEDA, A.; ISHIDA, R. and UCHIDA, H. (1990).- "Toxicokinetic study of norfloxacin a induced arthropathy in juvenile animals". **Toxicol. Appl. Pharmacol.** 105. 403-412.

MACHKA, K. and BRANENY, I. (1984).- "Inhibitorischewirkung verschiedener faktoren anf die aktinität von norfloxacin". In: Gyrase-Hemmer. STILLE, W. Eds. Fortschr. **Antimikrob. Antineoplast. Chemother.** 3-5. 557-561.

MAESEN, F.P.V.; TEENGs, J.P.; BAUR, C. and DAVIES, B.I. (1984).- "Quinolones and raised plasma concentrations of theophylline". **Lancet.** 2. 530-532.

MANN, D.D. and FRAME, G.M. (1992).- "Pharmacokinetic study of danofloxacin in cattle and swine". **Am. J. Vet. Res.** 53 (6). 1022-1026.

MARRINER, S.E. and BOGAN, J.A. (1981).- " Pharmacokinetics of fenbendazole in sheep". **Am. J. Vet. Res.** 42. (7). 1146-1148.

MARTEL, J.L., MOULIN, G. (1982).- "Etude de l'antibiorresistance *in vitro* des principales enterobacteries pathogenes chez le veau". **Bull. Soc. Vét. Prat. de France.** 66 (9). 633-647.

MARTINEZ-LARRAÑAGA, M.R.; ANADON, L.B.; DIEZ, M.J.; BRINGAS, P.; FERNANDEZ-CRUZ, M.L. y ANADON, A. (1993).- "Inhibición enzimática para fluoroquinolonas en el perro". **Revista de Farmacología Clínica y Experimental**. Número especial. 178.

MATSUMOTO, F. (1985).- "Ciprofloxacin. A new 4-quinolone". Ed. R. Findley. Sieber and McIntyre. Hong Kong. 37-42.

McALLISTER, T.A.; PERCIVAL, a.; ALEXANDER, J.G.; BOYCE, J.M.H.; DULAKE, G. and WORMALD, P.J. (1971).- "Multicentric study of sensitivities of urinary tract pathogens. **Posgrad. Med. J.** 47. (Sept. Suppl) 7-18.

McDANIEL, L.S.; ROGERS, L.H. and HILL, W.E. (1980).- " Survival of recombination deficient mutants of *Escherichia coli* during incubation with nalidixic acid." **J. Bacteriol.** 134. 1195-1198.

McEWAN, A.D. and OAKLEY, G.A. (1978).- " Anthelmintics and closure of the oesophageal groove in cattle". **Vet. Rec.** 102. 314-315.

MEDIAVILLA, A. y FLOREZ, J. (1992).- "Farmacología de las enfermedades infecciosas: principios generales, selección y asociaciones de antibióticos". En: Farmacología Humana. Ed. Ediciones Científicas y Técnicas, S.A. Barcelona. 976-977.

MEVIUS, D.J.; BRENKINK, H.J.; JANSEN, T.; GUELEN, P.J.M. and DE GRÈVE, B. (1989).- "Oral absorption and bioavailability of flumequine in veal calves". **Vet. Q.** 11 (4). 232-241.

MEVIUS, D.J.; BRENKINK, H.J. and VAN MIERT (1990a).- "*In vitro* activity of flumequine in comparison with several other antimicrobial agents against five pathogens isolated in calves in Netherlands". **Vet. Q.** 12. (4). 212-221.

MEVIUS, D.J.; BRENKINK, H.J.; GUELEN, P.J.M.; JANSEN, T. and DE GRÈVE, B. (1990b).- "Pharmacokinetics, metabolism and oral clearance of flumequine in veal calves". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 13. 159-169.

MEVIUS, D.J.; BRENKINK, H.J.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; KESSELS, B.G.F.; JOHSE, A.S. and SMIT, J.A.H. (1991).- "Effects of experimentally induced *Pasteurella haemolytica* infection in dairy calves on the pharmacokinetics of flumequine". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 14. 174-184.

MITSCHER, A.L.; ZAVOD, R.M. and SHARMA, P.N. (1989).- " Structure-Activity relationships of the newer quinolone antibacterials agents". In: International Telesymposium on Quinolones. Ed. J.R. Prous Science Publishers. Barcelona. Spain. 3-20.

MOGHA, I.V. and BHARGAVA, A.K. (1979).- " Rumen fistula technique and utility ". **Indian. Vet. J.** 56. 885-887.

MONTAY, G.; BLAIN, Y.; ROQUET, F. and LE HIR, A. (1983).- "High-performance liquid chromatography of pefloxacin and its main active metabolites in biological fluids". **J. Chromatogr.** 272. 359-365.

MONTAY, G.; GONEFFON, Y. and ROQUET, F. (1984).- "Absorption, distribution, metabolic fate and elimination of pefloxacin mesylate in mice, rats, dogs, monkeys and humans". **Antimicrob. Agents Chemother.** 25. 463-472.

MONTAY, G. and GAILLOT, J. (1990).- "Pharmacokinetics of fluoroquinolones in hepatic failure". **J. Antimicrob. Chemother.** 26. 61-67.

MOORHEAD, P.J. and PARRY, H.E. (1965).- "Treatment of sonnei dysenberg". **Br. Med. J.** 2. 913-915.

MUNSHI, M.H.; SACK, D.A.; HAIDEN, K.; AHMED, Z.V.; RAHAMAN, M.M. and MORSHED, M.G. (1987).- "Plasmid-mediated resistance to nalidixic acid in *Shigella dysenteriae* type I". **Lancet.** 2. 419-421.

MURAI, K.; BABO, S.; KINOSHITA, H. and KAWAI, T. (1984).- " Laboratory and clinical studies on DL8280 in otorhinolaryngological field". **Chemotherapy** (Tokyo). 32 (Suppl 1). 1043-1049.

NAWAZ, M. and KAHN, F.H. (1991).- " Bioavailability, elimination kinetics, renal clearance and excretion of ampicillin following intravenous and oral administration in sheeps and goats". **Acta Vet. Scand.** 87 (Suppl). 131-132.

NEER, T.M. (1988).- "Clinical pharmacologic features of fluoroquinolone antimicrobial drugs". **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 193 (5). 577-580.

NEU, H.C. (1987a).- "Ciprofloxacin: an overview and prospective appraisal". **Am. J. Med.** 82 (Suppl 2). 395-404.

NEU, H.C. (1987b).- "Clinical use of the quinolones". **Lancet.** 5. 1319-1322.

NEUMAN, M. (1987).- "Relationship between chemical structure of antibiotics and pharmacokinetics". **Drugs Explt. Clin. Res.** XIII (3). 115-124.

NEUMAN, M. (1988).- "Clinical pharmacokinetics of the newer antibacterial 4-quinolones". **Clin. Pharmacokin.** 14. 96-121.

NIELSEN, P.; ROMNARY, A. and RASMUSSEN, F. (1978).- "Sulphadoxine and trimethoprim in goats and cows: absorption fraction, half-lives and the degrading effect of the ruminal flora". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 1. 37-46.

NORRIS, S. and MANDELL, G.L. (1988).- "The quinolones: history and overview". In: The Quinolones. Ed. V.T. Andriole. Academia Press. London. pp. 1-22.

NORRBY, S.R. (1988).- "4-quinolones in the treatment of infections of the central nervous system". **Rev. Infect. Dis.** 10. 253-255.

NOUWS, J.F.M.; GINNEKEN, C.A.M.; VAN HECKMAN, P. and ZIV, G. (1982).- "Comparative plasma ampicillin formulations in ruminant calves". **Vet. Q.** 4. 62-67.

NOUWS, J.F.M.; VREE, T.B.; BAAKMAN, M.; DRIESSENS, F., BREUKINK, H.J. and MEVIUS, D. (1986).- "Age and dosage dependency in the plasma disposition and the renal clearance of sulfadimidine and its N₄-acetyl and hydroxy metabolites in calves and cows". **Am. J. Vet. Res.** 47. 642-649.

NOUWS, J.F.M.; MEVIUS, D.J.; VREE, T.B.; BAARS, A.M. and LAMENSEN, J. (1988).- "Pharmacokinetics, renal clearance and metabolism of ciprofloxacin following intravenous and oral administration to calves and pigs". **Vet. Q.** 10 (3). 156-163.

OUKESSOU, M. and TOUTAIN, P.L. (1992).- "Effect of water deprivation on absorption (oral, intramuscular) and disposition of ampicillin in sheep". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 15. 421-432.

OSBORNE, C.A. (1992).- "Control of chronic relapsing feline bacterial pyelonephritis with the aid of enrofloxacin". Proceedings of the First International Baytril Symposium. Bonn. 27-31.

OZAKI, T.; UCHIDA, H.; and IRIKURA, T. (1981).- "Studies on metabolism of AM-715 in humans by high performance liquid chromatography". **Chemotherapy (Japan)**. 29 (Suppl 4). 128-135.

PADHI, L.N.P. (1970).- "Preliminari *in vitro* studies on the effect of some chemicals and drugs on the rumen fauna of cattle". **Orissa. Vet. J.** 5. 30-32.

PATOU, J.H.; and REEVES, D.S. (1988).- "Fluoroquinolone antibiotics microbiology, pharmacokinetics and clinical use". **Drugs**. 36. 193-228.

PHILLIPS, I.; KING, A. and SHANNON, K. (1988).- "*In vitro* properties of the quinolones". In: The Quinolones (V.T. ANDRIOLE Ed.). Academic Press. London. 83-117.

POLAK, A. (1990).- "*In vitro* and *in vivo* activity of antifungal agents in combination with fleroxacin, a new quinolone". **Mycoses**. 33 (4). 173-178.

PRINS, R.A. (1987).- "Rumen microbial metabolism of plant secondary compounds, xenobiotics and drugs". In: Physiological and Pharmacological Aspects of the Reticulo-rumen. Martinus Nijhoff Publishers. 199-227.

PROBHALA, R.H.; RAO, B.; MARSHALL, R.; BAUSAL, M.B.; and THADEGALLI, H. (1984).- "*In vitro* susceptibility of anaerobic bacteria to ciprofloxacin (Bay 9867)". **Antimicrob. Agents Chemother.** 26. 785-786.

PUGLIESE, A.; NACCARI, F.; NIUTTA, P.P.; PIZIMENTI, F.C. y CATARSINI, O. (1993).- "Administración supramamaria de enrofloxacin en ovejas". **Veterinaria en Praxis.** 8 (1). 21-23.

RASMUSSEN, F. (1964).- "Salivary excretion of sulphonamides and barbiturates by cows and goats". **Acta Pharmacol. Toxicol.** 21. 11-19.

REEVES, D.S.; BYWATER, M.J. and HOLT, H.A. (1984).- "*In vitro* studies with ciprofloxacin, a new 4-quinolone compound". **J. Antimicrob. Chemother.** 13. 333-346.

RENNEBERG, J. and WALDER, M. (1989).- "Postantibiotic effects of imipenem, norfloxacin, and amikacin *in vivo* and *in vitro*". **Antimicrob. Agents Chemother.** 33 (10). 1714-1720.

RILEY, C.M.; KINDBERG, C.G. and STELLA, V.J. (1989).- "The physicochemical properties of quinolone antimicrobials variously substituted AT C-7. Implications in the development of liquid dosage forms". In: International Telesymposium on Quinolones. Ed. J.R. Prous Science Publishers. Barcelona. Spain. 21-36.

RIOND, J.C.; TYCZKOWSKA, K. and RIVIERE, E. (1989).- "Pharmacokinetics and metabolic interress of doxycycline in calves with mature or immature rumen function". **Am. J. Vet. Res.** 50 (8). 1329-1333.

ROGERS, J.D. (1983).- "Distribución y liposolubilidad de la norfloxacin tras su administración oral en el hombre". XIII Congreso Internacional de Quimioterapia. Simposio sobre Norfloxacin. Viena.

ROMAGNOLI, A.; BIOGI, G.; CARDINI, G. y CERRI, D. (1992).- "Uso de un nuevo antibiótico (enrofloxacin) en los procesos infecciosos de origen bacteriano en perros y gatos". **Veterinaria en Praxis**. 7 (1). 26-31.

RONALD, A.R.; TURCK, M. and PETERSDORF, R.G. (1966).- "A critical evaluation of nalidixic acid in urinary tract infections". **N. Engl. J. Med.** 275. 1081-1089.

ROY, C. y SEGURA, C. (1986).- "Las nuevas quinolonas". **Medicine**. 443-449.

RUCKEBUSCH, Y. (1977).- "Function digestive et glandes annexes". En: Physiologie, Pharmacologie et Therapeutique animales. Maloine, S.A. Paris. 124-307.

SANTOS, M.P. (1992).- Estudio farmacocinético de las curvas de nivel plasmático y excreción urinaria obtenidas tras la administración de ciprofloxacina en oveja por vía oral e intramuscular. Memoria de Grado de Licenciatura. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.

SCHEER, M. (1987a).- "Concentration of active ingredient in the serum and in tissues after oral and parenteral administration of Baytril". **Vet. Med. Rev.** 2. 104-118.

SCHEER, M. (1987b).- "Studies on the antibacterial activity of Baytril". **Vet. Med. Rev.** 2. 90-99.

SCHELINE, R.R. (1973).- "Metabolism of foreign compounds by gastrointestinal microorganism". **Pharmacol. Rev.** 25. 451-523.

SCHEMBORG, J.J. and DOMAGALA, J.M. (1985).- "Structure activity relationships with the quinolone antibiotics". **Res. Clin. Forum.** 7. 9-13.

SCHLÜTER, G. (1986).- "Toxicology of ciprofloxacin". In: Proceedings of the First International Ciprofloxacin Workshop. (H.C. NEU and H. WEUTA, eds.). Excerpta Medica. Amsterdam. 61-70.

SCHMIDT, A. et LOSERTH, J. (1989).- "Metabolisme des molécules thérapeutiques ou toxiques dans le rumen". **Rev. Med. Vet.** 140 (8-9). 713-717.

SCHÖNING, G. y PLONAIT, H. (1994).- " Metafilaxia y terapia del síndrome MMA en cerdas con Baytril". **Veterinaria en Praxis.** 9 (3). 14-22.

SCULLY, B.E.; NAKATOMI, M.; ORES, C.; DAVIDSON, S. and NEU, H.C. (1987).- "Cyprofloxacin therapy in cystic fibrosis". **Am. J. Med.** 82. 196-201.

SEMJEN, G. and WRIGHT, P. (1991).- "In vitro development of resistance to nalidixic acid and enrofloxacin among *Escherichia coli* strains of porcine origin". **Acta Vet. Scand.** 87 (Suppl). 375-378.

SETLON, J.L.; CALERUA-JUANS, E.; ALBRITTON, W.L.; SPIKES, D. and MUSCHLER, A. (1985).- "Mutations affecting gyrase in *H. influenzae*". **J. Bacteriol.** 164. 515-534.

SHEN, L.L.; BARANOWSKI, J.; CHU, D.T.W. and PERNET A.G. (1989).- "The binding of quinolones to DNA: Should be worry about it?. In: Quinolones. P.B. FERNANDES (Ed.). J.R. Proust Science Publishers. Barcelona. 159-170.

SHIBA, K.; SAITO, A.; SHIMADA, J.; NORI, S.; KAJI, M.; MIYAHARA, T.; KUSAJIMA, H.; KANEKO, S.; SAIKO, S.; OOIE, T. and UCHIDA, H. (1990).- "Renal handling of fleroxacin in rabbits, dogs and humans". **Antimicrob. Agents Chemother.** 34 (1). 58-64.

SHIMADA, J.; YAMAJI, T.; VEDA, Y.; UCHIDA, H.; KUSAJIMA, H. and IRIKURA, T. (1983).- "Mechanism of renal excretion of AM-715, a new quinoline carboxylic acid derivation in rabbits, dogs and humans". **Antimicrob. Agents Chemother.** 23 (1). 1-7.

SHOAF, S.E.; SCHWARK, W.S. and GUARD, C.L. (1987).- "The effect of age and diet an sulfadiazine/trimethoprim disposition following oral and subcutaneous administration to calves". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 10. 331-345.

SIEFERT, H.M.; MARUHU, D. and SCHOLL, H. (1986).- "Pharmacokinetics of ciprofloxacin". **Azzneim-Forsch. Drug. Res.** 36. (II). Nr 10. 1503-1510.

SINGLAS, E. et TABURET, A.M. (1985).- "Pharmacocinétique clinique des nouvelles quinolones". En: Les Nouvelles Quinolones. Eds. J.J. Pocidalo, F. Vachon et B. Regnier. Edition Arnette. Paris. 37-43.

SIPORIN, C. (1989).- "The evolution of fluorinated quinolones: pharmacology, microbiological activity, clinical uses and toxicities". **Annu. Rev. Microbiol.** 43. 601-627.

SISSON, S. and GROSSMAN, J. D. (1982).- Anatomia de los Animales Domesticos. Robert Getti (I). 5^a Ed. Salvat. Barcelona.

SMITH, J.T. (1984).- "Awakening the slumbering potencial of the 4-quinolones antibacterials". **Pharm. J.** 233. 299-305.

SMITH, J.T. (1986).- "Frequency and expression of mutational resistance to the 4-quinolone antibacterials". **Scand. J. Infect. Dis.** 49 (Suppl.). 115-123.

SMITH, J.T. and LEWIN, C.S. (1988).- "Chemistry and Mechanisms of action of the quinolone antibacterials". In: The Quinolones. Ed. by V.T. ANDRIOLE. Academic Press. London. 23-82.

SMITH, J.T. and RATCLIFFE, N.T. (1986).- "Effect of pH and magnesium on the *in vitro* activity of ciprofloxacin". In: Proceedings of the 1st International Ciprofloxacin Workshop. H.C. New and W. Wenta. Eds. Excerpta Medica. Amsterdam. 12-16.

SOBACK, S.; BOR, A.; KURTZ, B.; PAZ, R. and ZIV, G. (1977b).- "Clavulanate a potentiated amoxycillin: *in vitro* antibacterial activity and oral bioavailability in calves". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 10. 105-113.

SOBACK, S.; KURTZ, B. and ZIV, G. (1977a).- "Pharmacokinetics of phenoxymethyl (penicillin V) in calves". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 10. 17-22.

SOBACK, S.; ZIV, G.; KURTZ, B. and PAZ, R. (1987).- "Clinical pharmacokinetics of five oral cephalosporins in calves". **Res. Vet. Sci.** 43. 166-172.

SOBACK, S.; ZIV, G.; KURTZ, B. and RISENBERG, R. (1987).- "Age-dependent oral bioavailability of erythromycin thiocyanate in calves". **J. Vet. Med. A.** 34. 102-107.

SOBACK, S.; ZIV, G.; WINKIER, M. and SARAU, A. (1990).- "Efficacy of parenteral dry cow therapy for *S. aureus* under infections". **Isr. J. Vet. Med.** 45. 194-195.

SÖRGEL, F.; JAEHDE, V.; NABER, J.C. and STEPHAN, U. (1988).- "Penetration of different gyrase inhibitors into body fluids of healthy volunteers". Int. Cong. Infect. Dis. Rio de Janeiro. Abst. 844.

SÖRGEL, F.; JAEHDE, V.; NABER, K. and STEPHAN, U. (1989).- "Pharmacokinetic disposition of quinolones in human body fluids and tissues". **Clin. Pharmacokin.** 16 (suppl 1). 5-24.

SÖRGEL, F. and KINZIG, M. (1993).- "Pharmacokinetics of gyrase inhibitors, Part 2: renal and hepatic elimination pathways and drug interactions". **Am. J. Med.** 94 (3A). 56-69.

SPECHT, T.E.; FREDERICK, G. and RALEIGH, N. (1991).- "Quinolone a induced arthropathy in immature equidae". **JAVMA.** 198 (4). 516.

SPURLOCK, C.H. (1986).- "Increasing solubility of enoxacin and norfloxacin by means of salt formation". **J. Pharm. Sci. Technol.** 40. 70-72.

STAHLMANN, R. and LODE, H. (1988).- "Safety overview: toxicity, adverse effects and drug interactions". In: The Quinolones (V.T. ANDRIOLE Ed.). Academic Press. London. 201-233.

STEIN, G.E. (1987).- "Review of the bioavailability and pharmacokinetics of oral norfloxacin". **Am. J. Med.** 82 (Suppl 6B). 18-21.

STEVENS, P.J.E. (1980).- "Bactericidal effect against *Escherichia coli* of nalidixic acid and four structurally related compounds". **J. Antimicrob. Chemother.** 6. 535-542.

STILLE, W.; HARDER, S.; MIEKE, S.; BEER, C.; SHAH, P.M.; FRECH, K. and STAIB, A.H. (1987).- "Decrease of caffeine elimination in man during co-administration of 4-quinolones". **J. Antimicrob. Chemother.** 20. 729-734.

STIPKOVITS, L. (1988).- "Studies on the efficacy of Baytril in chickens after experimental infection with *Mycoplasma gallisepticum* and *Escherichia coli*." **Vet. Med. Rev.** 59. 102- 103.

SUMANO, H. (1993).- "Quinolonas y fluoroquinolonas en medicina veterinaria". **Vet. Mex.** 24 (2). 83-92.

SWANSON, B.N.; VENKATA, K.P.; VLASSES, P.H.; HESCHI, H.R. and FERGUSON, R.K. (1983).- "Norfloxacin disposition after sequentially increasing oral doses". **J. Antimicrob. Chemother.** 23. 284-288.

SWEENEY, R.W.; DIVERS, T.J.; BENSON, C. and COLLATAS, C. (1984).- "Pharmacokinetics of rifampin in calves and adult sheep". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 11. 413-416.

TAKASAGI, N.; NAKAMURA, K.; HAYASHI, T.; TSANAKAWA, M. and TAKEYA, Y. (1968).- "Studies on gastrointestinal absorption of nalidixic acid". **Chem. Pharm. Bull.** 16. 13-16.

TANAKA, N. (1982).- "Mechanism of action of the aminoglycoside antibiotics". In: Aminoglycoside antibiotics. H. Umesawa and I.R. Hooper. Ed. Springer-Verlag. 221-226.

TARTAGLIONE, T.A.; RAFFALONICH, A.C.; POYNOR, W.J.; INGROFF, A.E. and KERKERING, T.M. (1986).- "Pharmacokinetics and tolerance of ciprofloxacin after sequential increasing oral doses". **Antimicrob. Agents Chemother.** 29 (1). 62-66.

TENNEY, J.H.; MAACK, R.W.; and CHIPPENDALE, G.R. (1983).- "Rapid selection of organisms with increasing resistance on subinhibitory concentrations of norfloxacin in agar". **Antimicrob. Agents Chemother.** 23. 188-189.

THOMPSON, S. and BLACK, W.D. (1978).- "A study of the influence of the method of administration of ampicillin upon plasma drug levels in calves". **Can. J. Comp. Med.** 42. 255-259.

TYEZKOWSKA, K.; HEDEEN, K.M.; AUCOIN, D.P. and ARONSON, A.L. (1989).- "High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of enrofloxacin and its primary metabolite ciprofloxacin in canine serum and prostatic tissue". **J. Chromatogr.** 493. 337-346.

UMAN, K.; BABA, S. and HONDO, J. (1981).- "Laboratory and clinical studies on AM-715 in the otorhinolaryngological field". **Chemotherapy (Japan)**. 29 (Suppl 4). 755-761.

VALLISNERI, A.; FORMENTINI, V. e GIRARDELLO, G.P. (1985).- "Impiego di flumequine nel suinetto". **Obiettivi e Documenti Veterinari**. 9. 29-32.

VANCUTSEM, P.M.; BABISH, J.G. and SCHWARK, W.S. (1990).- "The fluoroquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity". **Cornell Vet.** 80 (2). 173-186.

VERSCHRAEGEN, G.; CLAEYS, G. and VAN DEN ABREEDE, A.M. (1988).- "Comparative *in vitro* activity of the new quinolone fleroxacin". **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.** 7. 63-66.

VYNCKIER, L.J. and DEBACKERE, M. (1993).- "Plasma ronidazole concentrations in sheep after intravenous, oral, intraruminal and intraabomasal administration". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 16. 70-78.

VOGELMAN, B. and CRAIG, W.A. (1986).- "Kinetics of antimicrobial activity". **J. Pediatrics.** 108 (5). 835-840.

WAGNER, J.G. (1983).- "Efecto de los factores fisiológicos normales y patológicos sobre la farmacocinética". En: Farmacocinética Clínica. Ed. Reverte. Barcelona.

WALKER, R.D.; STEIN, G.E.; BUDSBERG, S.C.; ROSSER, E.J. and MacDONALD, K.H. (1989).- "Serum and tissue fluid norfloxacin concentration after oral administration of the drug to healthy dogs". **Am. J. Vet. Res.** 50 (1). 154-157.

WALKER, R.D.; STEIN, G.E.; HAUPTMAN, J.G.; MacDONALD, K.H.; BUDSBERG, S.C. and ROSSER, E.J. (1990).- "Serum and tissue cage fluid concentrations of ciprofloxacin after oral administration of the drug to healthy dogs". **Am. J. Vet. Res.** 51 (6). 896-900.

WALKER, R.D. and WRIGHT, A.J. (1987).- "The quinolones". **Maq. Clin. Proc.** 62. 1007-1012.

WANG, J.C. (1974).- "Interactions between DNAs and gyrase: the effect of superhelical turns". **J. Mol. Biol.** 87. 797-816.

WATSON, A.D.J.; VAN GOGH, H.; VAN DEURZEN, P.J.M. and VAN DURIN, C.T.M. (1987).- "Pharmacokinetics of three sulphonamides in ruminant and preruminant kids". **Res. Vet. Sci.** 43. 208-216.

WATT, B. and BROWN, F.V. (1986).- "Is ciprofloxacin active against clinically important anaerobes?". **J. Antimicrob. Chemother.** 17. 605-613.

WHITE, L.O. (1987).- "Metabolism of 4-quinolones". **Quinolones Bulletin.** 3. 1-4.

WIEDNER, W. and SCHIEFER, H.G. (1987).- "Treatment of chronic bacterial prostatitis with ciprofloxacin: results of a one year follow-up study". **Am. J. Med.** 82 (suppl. 4A). 280-283.

WIJNANDS, W.J.A.; VAN HERWAARDEN, C.L.A. and VREE, T.B. (1984).- "Enoxacin raises plasmatheophylline concentrations".(letter). **Lancet.** 2. 108-109.

WIJNANDS, W.J.A.; VREE, T.B. and VAN HERWAARDEN, C.L.A. (1986).- "The influence of quinolone derivatives on theophylline clearance". **Br. J. Clin. Pharmacol.** 22. 677-683.

WILSON, R.C.; HUBERT, T.L. and GOETSCH, D.D. (1984).- "Serum erythromycin concentration in sheep fed two diets". **Am. J. Vet. Res.** 45 (6). 1148-1150.

WINGENDER, W.; BEERMANN, D.; FÖSTER, D.; GRAEFE, K. and KUHLMANN, J. (1986).- "Interactions of ciprofloxacin with food intake and drugs". In: Proceedings of the 1st International Ciprofloxacin Workshop. Eds. H.C. Neu and H. Wenter. Excerpta Medica. Amsterdam. 136-140.

WOLFSON, J.S. and HOOPER, D.C. (1985).- "The fluoroquinolones: structures, mechanisms of action and resistance, and spectra of activity in vitro". **Antimicrob. Agents Chemother.** 28 (4). 581-587.

WOLFSON, J.S. and HOOPER, D.C. (1989).- "Introduction to DNA gyrase, quinolones and quinolone resistance". In: Quinolones. P.B. FERNANDES (Ed.). J.R. Proust Science Publishers. Barcelona. 137-157.

WORCELL, A. (1974).- "Studies on the folded chromosome of *Escherichia coli*". In: Mechanism and Regulation of DNA Replication. KOLHER, A.R. and KOHIYAMA, M. Eds. Plum. Press. New York and London. 201-224.

YAMAGISHI, J.I.; JOSHIDA, H.; YAMAYOSHI, M. and NAKAMURA, S. (1986).- "Nalidixic acid-resistant mutations of the gyr B gene of *Escherichia coli*". **Mol. Gen. Genet.** 204. 367-373.

YOSHIDA, H.; KOJIMA, T.; YAMAGISHI, J.I. and NAKAMURA, S. (1988).- "Quinolone-resistant mutations of the gyr A gene of *Escherichia coli*". **Mol. Gen. Genet.** 211. 1-7.

YOSHIDA, H.; YAMAGISHI, J.I. and NAKAMURA, S. (1989).- "Quinolone resistant mutations of the gyr A and gyr B genes of *Escherichia coli*". In: Quinolones. P.B. FERNANDES (Ed.). J.R. Proust Science Publishers. Barcelona. 203-218.

ZHANG, Y.X. and NEN, H.C. (1991).- "Fleroxacin combined with rifampin". **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.** 14 (1). 23-27.

ZIV, G. (1976).- "Clinical pharmacology of oxolinic acid in young dairy calves". **Am. J. Vet. Res.** 37 (5). 513-516.

ZIV, G. and HORSEY, J. (1979).- "Elevation and prolongation of serum ampicillin and amoxyciclin concentrations in calves by the concomitant administration of probenecid". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 2. 187-194.

ZIV, G. and MARCUS, M.P.H. (1976).- " Clinical pharmacology of oxolinic acid in young dairy calves". **Am. J. Vet. Res.** 37. 513-515.

ZIV, G.; NOUWS, J.F.M.; GROOTHUIS, D.G. and VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. (1977).- "Oral absorption and bioavailability of ampicillin derivates in calves". **Am. J. Vet. Res.** 38 (7). 1007-1013.

ZIV, G.; SOBACK, S.; BOR, A. and KURTZ, B. (1986).- "Clinical pharmacokinetics of flumequine in calves". **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 9. 171-182.

ZIV, G.; SOBACK, S.; KURTZ, B.; GLICKMAN, A. and WINKIER, M. (1990).- "Concentrations of antibacterial quinolones in blood and milk". **Isr. J. Vet. Med.** 45. 209-210.